

CHARAKTERISIERUNG DERIVATISierter POLYSACCHARIDE
UND KIESELGELE IM BEREICH DER STATIONÄREN PHASEN
FÜR DIE CHROMATOGRAPHIE

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
– Dr. rer. nat. –

dem Fachbereich Biologie/Chemie der
Universität Bremen
vorgelegt

von
Hans-Gottfried Genieser
aus Berlin

1984



Digitized by the Internet Archive
in 2026

CHARAKTERISIERUNG DERIVATISierter POLYSACCHARIDE
UND KIESELGELE IM BEREICH DER STATIONÄREN PHASEN
FÜR DIE CHROMATOGRAPHIE

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften

-Dr.rer.nat.-

dem Fachbereich Biologie/Chemie der
Universität Bremen
vorgelegt

von

Hans-Gottfried Genieser

aus

Berlin

Referent: Prof. Dr. B. Jastorff
Korreferent: Prof. Dr. D. Gabel

Mündliche Prüfung: 27.3.84

Abkürzungen

CN	Cyano
DEAE	Diethylaminoethyl
GC	Gaschromatographie
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatographie
IR	Infrarot-Spektroskopie
MS	Massenspektrometrie
$^1\text{H-NMR}$	Kernresonanz-Spektroskopie über ^1H Kerne
$^{13}\text{C-NMR}$	Kernresonanz-Spektroskopie über ^{13}C Kerne
$^{29}\text{Si-NMR}$	Kernresonanz-Spektroskopie über ^{29}Si -Kerne
NO_2	Nitro
RP	Reversed Phase
RP-Aryl	Kieselgel mit aromatischem Liganden für RP-Chromatographie
RP-1	Kieselgel mit Methyliliganden für RP- Chromatographie
RP-8	Kieselgel mit Octylliganden für RP- Chromatographie
RP-18	Kieselgel mit Octadecylliganden für RP- Chromatographie
SAX	Starker Anionenaustauscher
SCX	Starker Kationenaustauscher
$\text{S}_{\text{N}}1$	Nucleophile Substitution 1ster Ordnung
TEGDE	Triethylenglycoldimethylether
THF	Tetrahydrofuran
TMCS	Trimethylchlorsilan
TMS	Trimethylsilan/Trimethylsilyl
UV	Ultraviolett-Spektroskopie
WAX	Schwacher Anionenaustauscher
WCX	Schwacher Kationenaustauscher

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1.	EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	
1.1	Einleitung	1
1.2	Analytische Techniken für derivatisierte Polymere	4
2.	CHARAKTERISIERUNG DERIVATISierter POLY-SACCHARIDE	
2.1	Strukturelle Grundlagen	
2.1.1	Aufbau der polymeren Träger	
2.1.1.1	Cellulose	7
2.1.1.2	Dextran	7
2.1.1.3	Agarose	8
2.1.2	Derivatisierte Polysaccharide	8
2.2	Polysaccharid-Derivate mit Etherbindung	
2.2.1	Die Etherspaltung mit Bortribromid	10
2.2.2	Charakterisierung von Octyl-Agarose (<u>8</u>).....	10
2.2.2.1	Qualitative Analyse	11
2.2.2.2	Störung der Analyse durch Adsorptionseffekt .	12
2.2.2.3	Quantitative Analyse	13
2.2.3	Charakterisierung von Phenyl-Agarose (<u>17</u>)....	14
2.2.3.1	Synthese und Reaktionsverhalten einer Modellverbindung (<u>20</u>).....	14
2.2.3.2	Quantitative Analyse	16
2.2.4	Charakterisierung von Benzyl-Cellulose (<u>24</u>)..	17
2.2.4.1	Quantitative Analyse	18
2.2.5	Charakterisierung von Hydroxypropyl-Dextran (<u>25</u>).....	19
2.2.5.1	Qualitative Analyse	20
2.2.6	Versuche zur Charakterisierung von DEAE-Polysacchariden (<u>32</u>)	
2.2.6.1	Struktur des DEAE-Liganden	21
2.2.6.2	Synthese und Reaktionsverhalten einer Modellverbindung (<u>36</u>).....	22

2.2.6.3	Umsetzung von DEAE-Polysacchariden mit KOH..	24
2.3	Polysaccharid-Derivate mit Isoharnstoff-Bindung	
2.3.1	Die Spaltung der Isoharnstoff-Bindung	27
2.3.2	Charakterisierung von Aminohexyl-Agarose (48).....	28
2.3.3	Charakterisierung von Aminooctyl-Agarose (49).....	29
3.	CHARAKTERISIERUNG DERIVATISIERTER KIESELGELE	
3.1	Strukturelle Grundlagen	
3.1.1	Struktur des Kieselgels	31
3.1.2	Kieselgel-Derivate mit Si-C Bindung	32
3.2	Charakterisierung kommerziell erhältlicher Kieselgel-Derivate	
3.2.1	Die Spaltung der Si-C Bindung mit KOH	36
3.2.2	Synthese und Reaktionsverhalten derivatisierter Modell-Kieselgele (62-64).....	37
3.2.3	Charakterisierung von RP-18 Kieselgelen	42
3.2.3.1	Optimierung der Reaktionsbedingungen	42
3.2.3.2	Quantitative Analyse	45
3.2.3.2.1	LiChrosorb RP-18	47
3.2.3.2.2	Polygosil 60-5 C ₁₈ , VYDAC 201 RP, Spherisorb S5 ODS C ₁₈	48
3.2.4	Charakterisierung von RP-8 Kieselgelen	48
3.2.4.1	MOS Hypersil	50
3.2.4.2	Kieselgel 60 HPLC C ₈ (Riedel)	50
3.2.4.3	SP 500 RP 8	52
3.2.4.4	GC Durapak n-Octane	52
3.2.5	Charakterisierung von RP-1 Kieselgelen	53
3.2.5.1	Chromosorb W-AW DMCS	55
3.2.5.2	Zorbax TMS	56
3.2.5.3	LiChrosorb RP-2	56
3.2.6	Charakterisierung von RP-Aryl Kieselgelen ..	57

3.2.6.1	Nucleosil C ₆ H ₅	57
3.2.6.2	SP 500 Phenyl	59
3.2.7	Charakterisierung von SCX Kieselgelen	59
3.2.7.1	Partisil SCX	62
3.2.7.2	Nucleosil SA	62
3.2.7.3	Bond Elut SCX, HPLC-Sorb VYDAC 401 SA	62
3.2.8	Charakterisierung von WCX Kieselgelen	64
3.2.9	Charakterisierung von SAX Kieselgelen	66
3.2.9.1	Nucleosil SB	68
3.2.9.2	HPLC-Sorb VYDAC 301 SB und VYDAC Anion Exchange	72
3.2.9.3	Partisil SAX	74
3.2.9.4	Bond Elut SAX	74
3.2.10	Charakterisierung von WAX Kieselgelen	75
3.2.10.1	HPLC-Sorb SIL 60-D 10 N(CH ₃) ₂ , Nucleosil 10 N(CH ₃) ₂ , LiChrosorb AXW	76
3.2.10.2	Bond Elut PSA	80
3.2.10.3	Derivate mit NH ₂ -Gruppen	82
3.2.11	Charakterisierung von NO ₂ Kieselgelen	83
3.2.12	Charakterisierung von CN Kieselgelen	86
3.2.13	Charakterisierung von Diol Kieselgelen ...	87
3.2.14	Charakterisierung von Amid Kieselgelen ...	89
3.3	Auswertung der Ergebnisse	90
4.	ZUSAMMENFASSUNG.....	93
5.	EXPERIMENTELLER TEIL	
5.1	Eingesetzte Arbeitsmittel	
5.1.1	Chemikalien	97
5.1.2	Stationäre Phasen	97
5.1.3	Gaschromatographie	99
5.1.4	Charakterisierungsmethoden	100

5.2	Analyse derivatisierter Polysaccharide	
5.2.1	Synthese von Modellverbindungen	
5.2.1.1	1-(2-Hydroxyethoxy)-3-phenoxy-2-propa- nol (<u>20</u>)	101
5.2.1.2	N,N-Diethyl-2-(2-Methoxyethoxy)ethyl- amin (<u>36</u>).....	102
5.2.2	Charakterisierung von Reaktionsprodukten	
5.2.2.1	Beispiel: Octyl-Agarose (<u>8</u>).....	103
5.2.3	Untersuchung käuflicher Polysaccharid- Derivate	
5.2.3.1	Octyl-Agarose (<u>8</u>).....	105
5.2.3.2	Phenyl-Agarose (<u>17</u>).....	106
5.2.3.3	Benzyl-Cellulose (<u>24</u>).....	106
5.2.3.4	Hydroxypropyl-Dextran (<u>25</u>).....	106
5.2.3.5	DEAE-Polysaccharide (<u>32</u>).....	107
5.2.3.6	Aminoalkyl-Agarosen (<u>48/49</u>).....	107
5.3	Analyse derivatisierter Kieselgele	
5.3.1	Synthese von Modell-Kieselgelen (<u>62-64</u>).....	107
5.3.2	Charakterisierung von Reaktionsprodukten	
5.3.2.1	Beispiel: 1,1,3,3-Tetramethyl-1,3-dioctyl- disiloxan (<u>66</u>).....	107
5.3.2.2	Beispiel: RP-8 Kieselgel	110
5.3.3	Untersuchung käuflicher Kieselgel-Derivate	
5.3.3.1	RP-18	112
5.3.3.2	RP-8/RP-Aryl	112
5.3.3.3	RP-1	112
5.3.3.4	SCX	113
5.3.3.5	WCX	113
5.3.3.6	SAX/WAX	113
5.3.3.7	NO ₂	114
5.3.3.8	CN	114
5.3.3.9	Diol	114
5.3.3.10	Amid	114
6.	LITERATUR	115

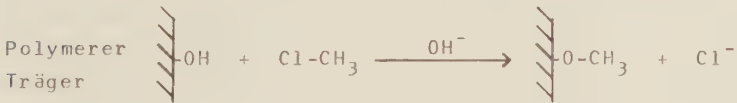
1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

1.1 Einleitung

Derivatisierte Polymere auf der Basis Cellulose, Dextran, Agarose und Kieselgel haben als stationäre Phasen für die Chromatographie große Bedeutung erlangt¹.

Ihre Vielseitigkeit und Verbreitung gründen sich vor allem auf die Tatsache, daß die physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften des ursprünglichen Polymeren durch die Derivatisierung völlig verändert und exakt den jeweiligen Erfordernissen angepaßt werden können.

Zur Derivatisierung werden Moleküle chromatographisch relevanter Struktur (Liganden) mit Hilfe einer funktionellen Gruppe an reaktive Zentren des Polymeren gebunden (Schema 1). Bei der Auswahl geeigneter Substituenten wird oft noch ein Abstandshalter (Spacer) zwischen dem polymeren Träger und dem eigentlichen Liganden berücksichtigt.



Schema 1: Derivatisierung eines polymeren Trägers
(Beispiel: Methyl-Cellulose)

Trotz der vielseitigen Derivatisierungsmöglichkeiten gibt es erst eine vergleichsweise geringe Zahl kommerziell erhältlicher Produkte. Sie finden vor allem als stationäre Phasen in der Chromatographie Verwendung.

Auf Polysaccharid-Basis sind hauptsächlich Derivate mit starken und schwachen Ionenaustauschfunktionen, wie z.B. Diethylaminoethyl-Cellulose, erhältlich. Ferner sind Produkte mit lipophilen Substituenten für die Hydrophobe Chromatographie im Handel, ebenso wie quervernetzte Polysaccharide und für die Kopplung mit Affinitätsliganden vorbereitete Materialien².

Bei den Kieselgelen stehen Derivate mit hydrophoben Alkyl- liganden für die Reversed Phase Chromatographie bedeutungs-

mäßig an erster Stelle. Üblich sind hier vor allem Materialien mit Octyl- und Octadecyl-Gruppen (RP-8, RP-18)³.

Eine weitere Kategorie bilden dort die Ionenaustauscher. Unterschieden wird zwischen starken und schwachen Anionenaustauschern (SAX bzw. WAX), sowie starken und schwachen Kationenaustauschern (SCX bzw. WCX).

Der Ionenaustauscheffekt wird am Liganden durch quartäre Ammoniumionen bzw. Amine, oder durch Sulfonsäure- bzw. Carbonsäure-Gruppen erreicht.⁴

Weitere kommerzielle Kieselgelprodukte tragen Substituenten mit spezieller chromatographischer Selektivität, wie z.B. Nitro- und Cyano-Gruppen, oder aber reaktive Liganden, die eine Immobilisierung größerer Moleküle für die Affinitätschromatographie ermöglichen.⁵⁻⁹

Weitere Materialien sind in der Entwicklung. So wurde bereits über chirale stationäre Phasen¹⁰ oder gebundene Phasentransfer-Katalysatoren berichtet.^{11,12}

Abhängig von den jeweils gewählten Reaktionsbedingungen und den Ausgangsmaterialien entstehen bei der Derivatisierung polymerer Träger quantitativ unterschiedlich substituierte Produkte, sodaß Materialien gleicher Bezeichnung, aber unterschiedlicher Herkunft erheblich differierende Belegungsdichten aufweisen können.

Der Substitutionsgrad hat jedoch großen Einfluß auf die chromatographischen Eigenschaften des Trennmaterials.^{13,14}

So nimmt beispielsweise der Vergleich von RP-18 Kieselgelen der verschiedenen Hersteller breiten Raum in der Literatur ein.¹⁵⁻²⁷

Diese Unterschiede sind jedoch nicht nur zwischen Produkten unterschiedlicher Hersteller zu beobachten, sondern treten durchaus auch innerhalb der Syntheseansätze (batches) derselben Firma auf.²⁸⁻³⁰

Die sich daraus ableitende Problematik ist allgemein bekannt und oft beschrieben worden.^{3,18,22,23,31,32}

- Optimierte Trennungen sind nach einem Säulenwechsel nicht mehr in gleicher Qualität zu erreichen.
- Die Elutionsreihenfolge von Probenkomponenten kann verändert werden (Selektivität).
- Reproduktion publizierter Ergebnisse ist oft nicht möglich.
- Zwang zum Ankauf großer Mengen des Materials, um gleichbleibende Qualität zu sichern.

Die Pluralität auf dem Markt für derivatisierte Polymere könnte jedoch durchaus positiv gesehen werden, wenn eine lückenlose Charakterisierung der angebotenen Materialien dem Benutzer eine Auswahl nach chromatographischen Kriterien gestatten würde.

Die Charakterisierung hat jedoch mit der raschen Entwicklung immer neuer Materialien nicht Schritt halten können, so daß Qualitätsschwankungen käuflicher Produkte zwar als solche an veränderten Ergebnissen in der Chromatographie sofort erkannt, jedoch selten erklärt und auf bestimmte Parameter zurückgeführt werden können.

Während die Substituenten bei derivatisierten Polysacchariden zum großen Teil bekannt sind, bewirkt vor allem bei den Kieselgelen das Fehlen einer allgemein zugänglichen, analytischen Methodik, daß die detaillierte Struktur der jeweiligen Liganden oft als Firmengeheimnis behandelt wird. Dies kann die Interpretation von Chromatogrammen zusätzlich erschweren. So finden sich in der Literatur häufig Vermutungen über die Struktur des jeweils benutzten Trennmateri als auf der Basis chromatographischer Resultate.^{15-17,21,33-35}

Die sich daraus ableitende Forderung nach Entwicklung leistungsfähiger Charakterisierungsmethoden für modifizierte Polymere wurde mit dieser Arbeit aufgegriffen und nach Verfahren gesucht, die mit möglichst einfachen Mitteln die Struktur des jeweiligen Liganden belegen und auch quantitative Messungen erlauben.

1.2 Analytische Techniken für derivatisierte Polymere

Die bisher publizierten analytischen Verfahren für derivatisierte Polymere sind in der Regel jeweils für selbstsynthetisierte Spezialliganden entwickelt worden und nutzen bestimmte strukturelle Gegebenheiten im Substituenten zur Analyse.

Für Liganden aus dem Bereich der Affinitätschromatographie gibt Turková³⁶ eine Zusammenfassung derartiger Verfahren. Diese Methoden können im Einzelfall sehr nützlich sein, eine Basis für eine generell anwendbare analytische Methode bieten sie jedoch in der Regel nicht.

Breitere Anwendbarkeit ermöglichen spektroskopische Methoden. So wurden ¹³C-NMR-Spektroskopie zur Strukturaufklärung³⁷ und ¹H-NMR-Spektroskopie für quantitative Messungen an Alkylagarenosen mit Etherbindung eingesetzt.³⁸ Kißing und Reiner³⁹ verbesserten die Quantifizierung und Halperin et al.⁴⁰ paßten die Technik den Erfordernissen von Agarose-Derivaten mit Isoharnstoff-Bindung an. Auch Celluloseether wurden auf diese Art untersucht.^{41,42}

Je nach Typ des Liganden können jedoch die Signale der polymeren Matrix die Auswertung erheblich stören. Homcy et al.⁴³ fanden darüberhinaus die Methode für geringe Substitutionsgrade ungeeignet und bestimmten die generelle Fehlerquote zu 15%.

Zunächst nur unter qualitativem Aspekt wurde bei den modifizierten Kieselgelen mit ¹³C-NMR-Spektroskopie,^{44,45} zum Teil in Kombination mit ²⁹Si-NMR-Messungen,^{46,47} die Struktur der Liganden aufgeklärt.

Weitere spektroskopische Techniken für Kieselgele sind Infrarot-Spektroskopie (IR)⁴⁸⁻⁵³ und Photoakustik-Spektroskopie.^{54,55}

Thermogravimetrie-Massenspektrometrie⁵⁶ und GC-Analysen nach alkalischer Hydrolyse und Derivatisierung,⁵⁷ nach Umsetzung mit Fluorwasserstoff^{58,59} oder nach pyrolytischer Zersetzung^{32,60,61} wurden ebenfalls für Kieselgel-Derivate eingesetzt.

Seit der Einführung derivatisierter Kieselgele in der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) durch Halász und Sebastian⁶² und anderen, wird der Syntheserfolg auch oft durch

die Elementaranalyse (%C) belegt; ein Verfahren, das viele Hersteller auch heute noch einsetzen.

Über die Genauigkeit der Methode finden sich unterschiedliche Angaben von 0,1%^{56,63} bis hin zu 10%.^{64,65}

Ein entscheidender Nachteil des Verfahrens liegt in der Tatsache, daß weder die Struktur des Liganden ermittelt, noch zwischen dem eigentlichen Substituenten und Methylgruppen vom Endcapping (vergl. Schema 20, S.35) unterschieden werden kann. So sind Kieselgele mit niedrigem Substitutionsgrad in Bezug auf den eigentlichen Liganden und hohem Anteil von Trimethylsilyl-Gruppen nicht sicher von solchen umgekehrter Version unterscheidbar.¹³

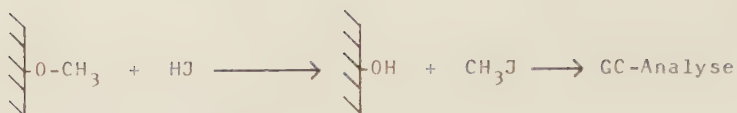
Abgesehen von der Bestimmung des Kohlenstoffgehalts hat sich bisher keine der erwähnten Methoden generell durchsetzen können, da Störungen oder meßtechnischer Aufwand hoch (Festkörper-NMR), der Informationsgehalt gering (IR), oder die Anzahl der auszuwertenden Signale sehr groß ist (alk. Hydrolyse/Pyrolyse).

Nahezu alle Arbeiten befaßten sich zudem ausschließlich mit der Untersuchung selbstsynthetisierter Produkte von bekannter Struktur. Kommerziell erhältliche Produkte ohne Information über den Liganden wurden nur selten analysiert.

Daher sollte im Rahmen dieser Arbeit eine alternative analytische Technik entwickelt werden, die mit einfachen Mitteln detaillierte Auskunft über Struktur und Substitutionsgrad eines Liganden ermöglicht und sich auf möglichst viele Materialien mit ihren unterschiedlichen funktionellen Gruppen anwenden läßt.

Dazu wurde hier als analytisches Grundprinzip die Abspaltung des Liganden mit geeigneten Reagenzien von der polymeren Matrix und die anschließende GC-Untersuchung der Reaktionsprodukte gewählt.

Diese Arbeitsweise ist prinzipiell schon bekannt, wurde jedoch hauptsächlich bislang nur auf immobilisierte Proteine⁶⁶ und technisch relevante Alkyl-Cellulosen⁶⁷⁻⁶⁹ angewandt (Schema 2).



Schema 2: Abspaltung des Liganden von der polymeren Matrix für die GC-Analyse als Grundprinzip der Charakterisierung derivatisierter Polymere (Beispiel: Methyl-Cellulose)

An das Spaltungsreagenz mußten folgende Anforderungen gestellt werden:

- Hohe Reaktivität für die Ligand/Polymer-Bindung
- Keine Reaktion mit dem polymeren Träger, oder aber Bildung nichtflüchtiger Reaktionsprodukte, die bei der GC-Analyse nicht stören.
- Keine Reaktion mit funktionellen Gruppen am Liganden, oder aber Bildung flüchtiger Reaktionsprodukte, die sich problemlos im GC nachweisen lassen.

Während die strukturell ähnlichen Polysaccharide mit ihren Derivaten im folgenden gemeinsam besprochen werden, sind die modifizierten Kieselgele in einem separaten Teil beschrieben.

2. CHARAKTERISIERUNG DERIVATISIERTER POLYSACCHARIDE

2.1 Strukturelle Grundlagen

2.1.1 Aufbau der polymeren Träger

2.1.1.1 Cellulose

Cellulose ist ein lineares Polysaccharid, dessen zahlreiche β -D-Glucopyranose-Bausteine untereinander fast ausschließlich über 1 $\rightarrow$ 4 Verknüpfungen verbunden sind (Abb.1). Abgesehen von den Kettenenden weisen die einzelnen Glucose-einheiten jeweils zwei sekundäre und eine primäre Hydroxylgruppe auf, die nahezu beliebig derivatisiert werden können.⁷⁰

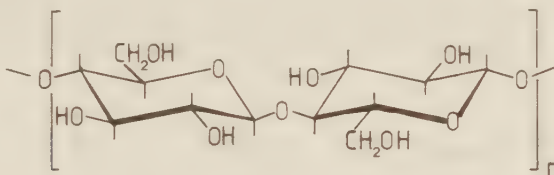


Abb.1: Struktur der Cellulose (verändert nach 71)

2.1.1.2 Dextran

Dextran ist im Gegensatz zu Cellulose eine, zum Teil verzweigte, Poly- α -D-Glucopyranose, die von verschiedenen Bakterienstämmen (*Leuconostoc mesenteroides*) in (+)-Saccharose-Lösungen produziert wird (Abb.2).

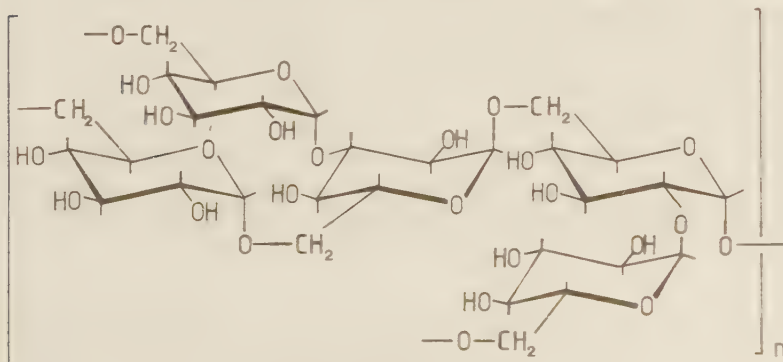


Abb.2: Mögliche Strukturelemente des Dextrans
(verändert nach 72)

Vermutlich werden die Hauptketten über 1→6 Verknüpfungen gebildet; Verzweigungen können über 1→2, 1→3 oder 1→4 Bindungen vorliegen.³⁶ Für die Derivatisierung stehen damit hauptsächlich sekundäre Hydroxylgruppen zur Verfügung.

2.1.1.3 Agarose

Agarose ist eine aus Rotalgen gewonnene, lineare Polygalactose, in der die monomere Einheit aus Disaccharid-Bausteinen besteht, die ihrerseits aus β -D-Galactopyranose in 1→4 Verknüpfung zu 3,6-Anhydro- α -L-galactopyranose aufgebaut sind (Abb.3). Die einzelnen Disaccharide sind über 1→3 Bindungen untereinander verknüpft.³⁶ Pro Disaccharid-Einheit stehen damit drei sekundäre und eine primäre Hydroxylgruppe für die Kopplung von Liganden zur Verfügung.

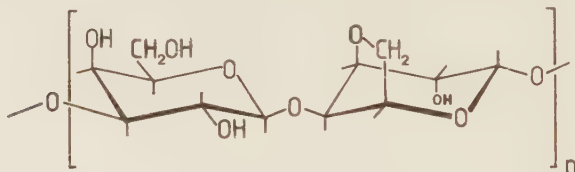
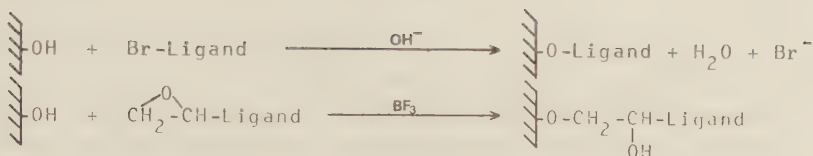


Abb.3: Struktur der Agarose (verändert nach 73)

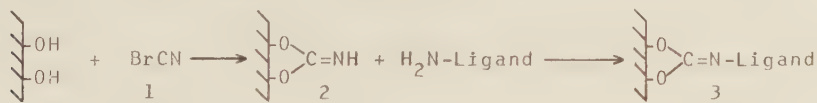
2.1.2 Derivatisierte Polysaccharide

Die freien OH-Gruppen der beschriebenen Polysaccharide können auf sehr unterschiedliche Weise derivatisiert werden. Sinnvoll für chromatographische Belange sind jedoch nur Verfahren, die relativ stabil gebundene Liganden liefern. Viele käufliche Polysaccharid-Derivate tragen daher Substituenten, die über eine Etherbindung an der Matrix fixiert wurden. Neben der Veretherung durch Alkylhalogenide⁷⁴ ist auch die Umsetzung mit Oxiranen gebräuchlich⁷⁵ (Schema 3).



Schema 3: Veretherung von Polysacchariden

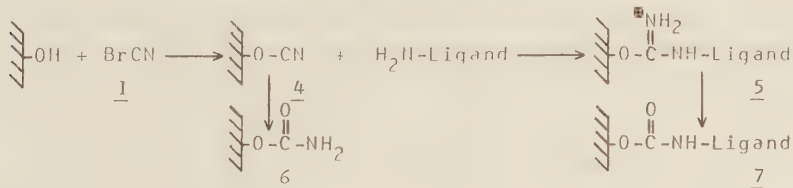
Besonders in der Affinitätschromatographie findet dagegen die Aktivierung mit Bromcyan (1) Anwendung.⁷⁶ Während Dextran bei der Umsetzung mit 1 hauptsächlich cyclische Imidocarbonate (2) ausbildet, finden sich nach der Aktivierung von Agarose überwiegend Cyanatester (4). Die anschließende Umsetzung mit der Aminogruppe eines Liganden fixiert den Substituenten bei Dextran hauptsächlich als N-substituiertes Imidocarbonat* (3) (Schema 4).



Schema 4: Aktivierung von Dextran mit BrCN und anschließender Ankopplung eines Liganden (verändert nach 77).

Beim Arbeiten mit Agarose entsteht überwiegend ein Isoharnstoff-Derivat⁷⁸ (5). Hier können auch Carbamate (6,7) in Nebenreaktionen gebildet werden (Schema 5).

Ergebnisse für Cellulose wurden bisher nicht publiziert.



Schema 5: Aktivierung von Agarose mit BrCN und anschließender Ankopplung eines Liganden (verändert nach 77).

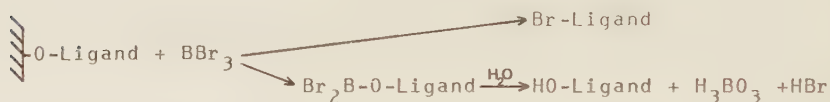
* Dextran-Derivate mit Imidocarbonatbindung (3) wurden in dieser Arbeit nicht untersucht.

2.2 Polysaccharid-Derivate mit Etherbindung

2.2.1 Die Etherspaltung mit Bortribromid

Zur Charakterisierung ethergebundener Liganden wurde Bortribromid (BBr_3) eingesetzt, das sich bereits in früheren Untersuchungen zur Etherspaltung bewährt hatte.²⁸

Bereits unter milden Reaktionsbedingungen (30°C , 5min.) wird dabei der Ligand quantitativ unter Abspaltung vom polymeren Träger bromiert oder hydroxyliert⁷⁹⁻⁸¹ (Schema 6) und ist somit in der Regel für die GC-Analyse geeignet.



Schema 6: Produkte der Etherspaltung mit Bortribromid

Störende Signale von abgebauten Polysacchariden wurden nicht beobachtet.⁸²

2.2.2 Charakterisierung von Octyl-Agarose (8)

Kommerziell erhältliche Octyl-Agarose (8) wird zur Trennung von Proteinen genutzt (Hydrophobe Chromatographie⁸³).

Der Octylrest ist nicht direkt, sondern über einen Spacer an die polymere Matrix gebunden (Abb.4).

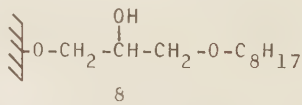


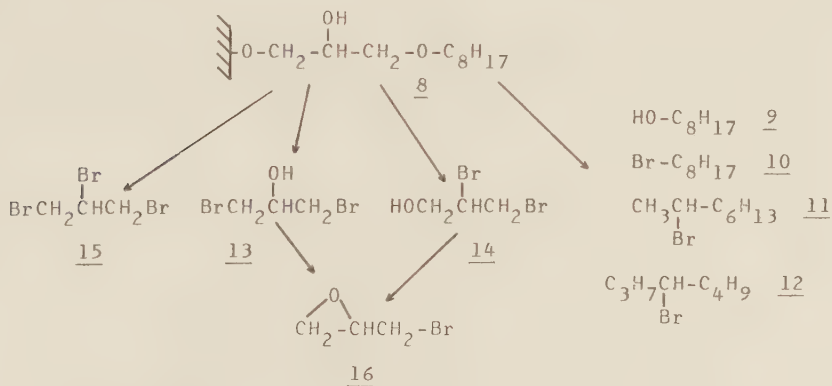
Abb.4: Struktur käuflicher Octyl-Agarose⁸⁴

2.2.2.1 Qualitative Analyse

Bei der Umsetzung von Octyl-Agarose (8) mit BBr_3 war schon früher der Nachweis der quantitativen Etherspaltung durchgeführt und 1-Octanol (9), sowie 1-Bromooctan (10) neben unbekannten Signalen gefunden worden.²⁸

Ergänzende Untersuchungen unter optimierten Bedingungen zeigten nun mit Hilfe der GC-MS Kopplungstechnik auch das Entstehen isomerer Bromooctane (11,12). Ebenfalls wurden zwei isomere Dibrompropanole (13,14) und 1,2,3-Tribrompropan (15) als Fragmente des Spacers gefunden (Schema 7).

Wurden die umgesetzten Proben nicht sofort gemessen, konnte zusätzlich 3-Brom-1,2-epoxypropan (16) nachgewiesen werden, das vermutlich aus 13 und 14 gebildet worden war.



Schema 7: Reaktionsprodukte der Umsetzung von Octyl-agarose mit BBr_3 .

Die Bildung isomerer Bromooctane steht in Übereinstimmung mit anderen Ergebnissen⁸⁵ und ist auf einen Reaktionsmechanismus nach $\text{S}_{\text{N}}1$ über umlagerungsfähige Carbokationen zu erklären.

2.2.2.2 Störung der Analyse durch Adsorptionseffekt

Während der Arbeiten wurde festgestellt, daß das GC-Signal für Octanol (9) mit jeder neuen Injektion kleiner wurde und schließlich ganz verschwand. Selbst größere Mengen reinen Octanols zeigten nun keinen Respons mehr. Die Auflösung und Wiedergabe anderer Signale wurde dagegen nicht merklich beeinträchtigt. Ein Säulenwechsel brachte vorübergehend Abhilfe, bald jedoch stellte sich der Effekt erneut ein. Da auf Grund der beobachteten Phänomene Adsorptionsvorgänge nicht ausgeschlossen waren, wurden zur Problemlösung erfolglos sowohl das Trägermaterial, als auch der Säulentyp im GC variiert. Weitere Untersuchungen konzentrierten sich auf das stark saure BBr_3 -Hydrolysat. Eine Neutralisation verzögerte zwar das beschriebene Phänomen, verhinderte es aber nicht.

Mit Hinblick auf die ebenfalls bei der Hydrolyse des BBr_3 entstehende Borsäure wurde eine neue GC-Säule gepackt, die vor Beginn des üblichen Trägermaterials eine Schicht Borsäure enthielt. Hier war der Adsorptionseffekt sofort zu beobachten.

Dieser Befund führte schließlich zur Problemlösung. Offensichtlich gelangt Borsäure während der Injektion der Probe über das relativ polare Lösungsmittel in den Injektor und in den Säulenanfang und wird dort akkumuliert.

Ein so kontaminiertes Einlaßteil adsorbiert selektiv primäre und sekundäre aliphatische Alkanole in Form ihrer Borsäuretriester, die im Vergleich zu den freien Alkoholen eine wesentlich geringere Flüchtigkeit besitzen.^{86,87}

Durch wiederholte Injektionen größerer Mengen Wasser bei 100°C bis zur Stabilisierung der Basislinie konnte die analytische Leistungsfähigkeit der Säule wiederhergestellt werden. Eine Entfernung von Borsäure und Borsäureester durch Veresterung bzw. Umesterung konnte auch durch Methanol-Injektionen, gefolgt von längerem Ausheizen, erreicht werden.

2.2.2.3 Quantitative Analyse

Nach Aufklärung der Adsorptionserscheinungen und der strukturellen Zuordnung aller Reaktionsprodukte wurde die absolute Quantifizierung über die Methode des internen Standards durchgeführt. Produkte mit drei verschiedenen Batch-Nummern standen hierfür zur Verfügung. Zur GC-Auswertung wurde die Summe aller Octyl-Signale (9-12) auf den Standard n-Dodecan bezogen und zur Abschätzung des Fehlers jeweils 10 vollständige Bestimmungen durchgeführt.

Alle drei Proben von 8 zeigten die gleichen Reaktionsprodukte im GC (Abb.5), wiesen jedoch unterschiedliche Substitutionsgrade auf (Tab.1). Die ermittelte Standardabweichung betrug 1,6%.

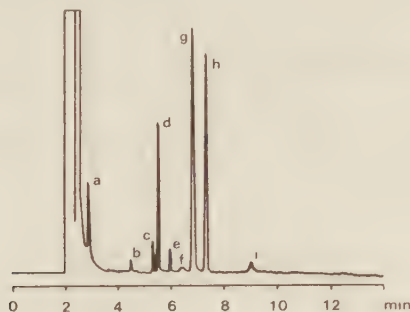


Abb.5: GC der Reaktionsprodukte von Octyl-Agarose (8) nach Umsetzung mit BBr_3 . Peaks: a=3-Brom-1,2-epoxypropan; b=1-Octanol; c=4-Bromoctan; d=2-Bromoctan; e=1,3-Dibrom-2-propanol; f=2,3-Dibrom-1-propanol; g=1-Bromoctan; h=n-Dodecan (interner Standard); i=1,2,3-Tribrompropan.

Tab.1: Substitutionsgrade von Octyl-Agarosen (8)

Batch-Nr	Substitutionsgrad [$\mu\text{Mol/mg}$]
9080	0,825
3375	0,886
11143	0,759

Bei der Auswertung der Ergebnisse müssen folgende Gesichtspunkte berücksichtigt werden.

Die Umsetzung mit BBr_3 konnte nicht mit trockenen Materialien erfolgen, die Abmessung der Proben wurde daher auf Volumenbasis in wässrigem Milieu durchgeführt.

Der Substitutionsgrad der Proben hat jedoch einen beträchtlichen Volumeneinfluß.

Um Vergleiche zwischen unterschiedlichen Batch-Nummern ziehen zu können, muß der erhaltene Substitutionsgrad in der Dimension $\mu\text{Mol/ml}$ daher mit dem Trockengewicht (mg/ml) auf die Dimension $\mu\text{Mol/mg}$ umgerechnet werden.

Der Hersteller gibt pauschal für alle Chargen einen Substitutionsgrad von etwa $40\mu\text{Mol/ml}$ an; die hier gemessenen Werte liegen im Vergleich bei 29,5 (9080) bzw. 32,83 (3375) bzw. 39,62 (11143) $\mu\text{Mol/ml}$.

2.2.3 Charakterisierung von Phenyl-Agarose (17)

Ähnlich wie Octyl-Agarose (8) wird auch Phenyl-Agarose (17) für die Hydrophobe Chromatographie⁸⁸ eingesetzt (Abb.6).

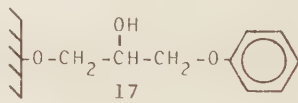


Abb.6: Struktur käuflicher Phenyl-Agarose⁸⁴

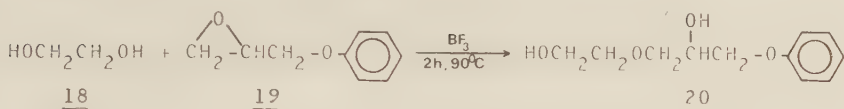
Während die quantitative Spaltung von Dialkylethern mit BBr_3 bereits an Modellverbindungen bewiesen werden konnte,⁸⁹ lagen Erkenntnisse über das Reaktionsverhalten von Alkylarylethern nicht vor.

Diarylether werden von BBr_3 nicht angegriffen.⁹⁰

2.2.3.1 Synthese und Reaktionsverhalten einer Modellverbindung (20)

Zum Nachweis einer quantitativen Etherspaltung wurde 1-(2-Hydroxyethoxy)-3-phenoxy-2-propanol (20) als Modellverbindung

aus Phenylglycidylether (19) und Ethandiol (18) dargestellt⁹¹ (Schema 8).



Schema 8: Synthese von 1-(2-Hydroxyethoxy)-3-phenoxy-2-propanol (20) als Modellverbindung für quantitative Etherspaltung.

Die Verbindung 20 wurde über MS, ¹H-NMR und IR charakterisiert.

Im Gegensatz zu aliphatischen Ethern war die Spaltung von 20 mit BBr₃ nach fünf Minuten bei 30°C nicht vollständig.

Das GC (Abb.7) zeigte neben 18,22,23 (Schema 9), hauptsächlich Signale von Verbindungen mit nicht gespalte-
ner Phenoxy-Gruppe, wie etwa 3-Phenoxy-1,2-propandiol, 1-Brom-3-phenoxy-2-propanol und Phenylglycidylether (19).

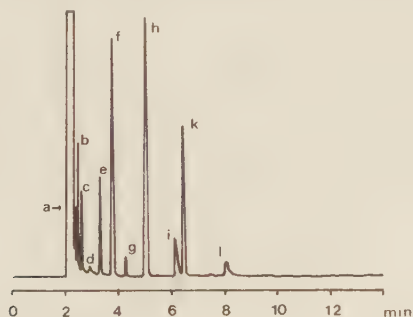
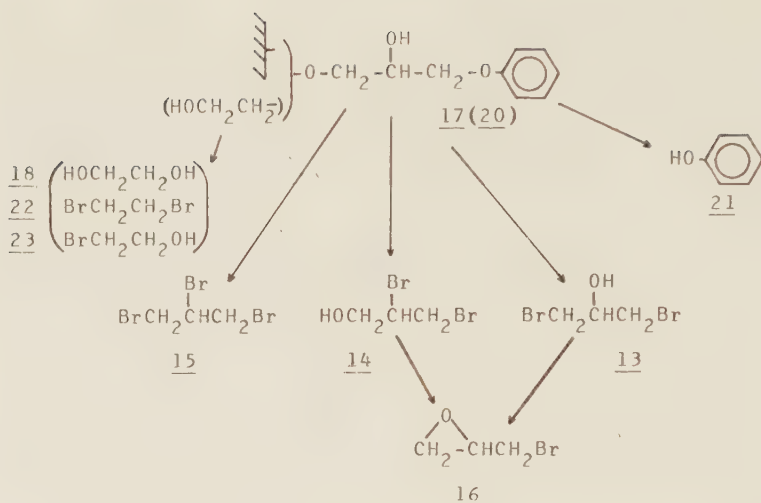


Abb.7: GC von Spaltungsprodukten der Modellverbindung (20) mit BBr₃ nach unvollständiger Umsetzung. Peaks: a= Ethandiol; b=2-Bromethanol; c=3-Brom-1,2-epoxypropan; d=1,2-Dibromethan; e=Phenol; f= Undecan (interner Standard); g=1,3-Dibrom-2-propanol; h=Phenylglycidylether; i=3-Phenoxy-1,2-propandiol; k=1-Brom-3-phenoxy-2-propanol; l=Modellether (20).

Eine Erhöhung der Reaktionszeit auf eine Stunde ergab schließlich eine Phenolausbeute, die der molaren Einwaage der Modellverbindung (20) entsprach. Im GC zeigten sich auch Produkte des anderen Etherteils (13-16 und 18,22,23 aus Schema 9).



Schema 9: Reaktionsprodukte der Umsetzung von Phenyl-Agarose (17), bzw. der Modellverbindung (20) (in Klammern) mit BBr_3 .

2.2.3.2 Quantitative Analyse

Phenyl-Agarose (17) wurde mit BBr_3 unter gleichen optimierten Bedingungen umgesetzt. Das erhaltene GC war, abgesehen von den Verbindungen 18, 22 und 23, identisch mit dem der Modellverbindung (20) (Schema 9, Abb. 8).

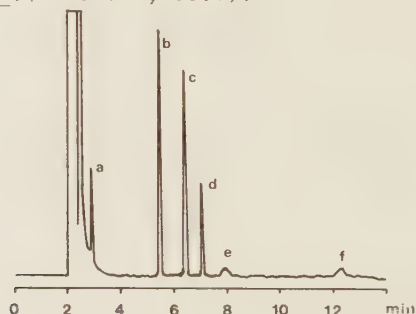


Abb. 8: GC der Reaktionsprodukte von Phenyl-Agarose (17) mit BBr_3 . Peaks: a=3-Brom-1,2-epoxypropan; b=Phenol; c=n-Undecan (interner Standard); d=1,3-Dibrom-2-propanol; e=2,3-Dibrom-1-propanol; f=1,2,3-Tribrompropan.

Zur Quantifizierung wurde n-Undecan als interner Standard zugesetzt und der Substitutionsgrad zu $0,826 \pm 0,035 \mu\text{Mol/mg}$ ($29,2 \mu\text{Mol/ml}$) bestimmt. Die Standardabweichung, bezogen auf 10 Messungen, war etwas höher, als bei Octyl-Agarose (8) und betrug 4,3%.

Auch in diesem Fall gibt der Hersteller $40 \mu\text{Mol/ml}$ als Substitutionsgrad des Produkts an, die offensichtlich nicht erreicht wurden.

Borsäure-induzierte Adsorptionseffekte wurden für Phenol (21) nicht beobachtet; verantwortlich dafür könnte die geringe Bildungsgeschwindigkeit für Borsäuretriphenylester sein.⁹²

Die eindeutige Orientierung bei der Etherspaltung, die ausschließlich Phenol (21) und nicht Brombenzol entstehen läßt,^{79,93,94} kann auf die geringe Stabilität von Phenyl-Carbokationen zurückgeführt werden.⁹⁰

2.2.4 Charakterisierung von Benzyl-Cellulose (24)

Celluloseether mit hydrophoben Liganden haben sich in der Chromatographie bisher nicht durchgesetzt. Ihre Bedeutung in der Industrie dagegen ist groß.⁹⁵ Daher sollte mit Benzyl-Cellulose (24) auch ein solcher Vertreter untersucht werden (Abb. 9).

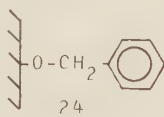


Abb. 9: Struktur käuflicher Benzyl-Cellulose

Das kommerzielle Produkt war mit Benzaldehyd und Benzylalkohol verunreinigt, die sich bereits nach Spülung von 24 mit Aceton im GC nachweisen ließen.

2.2.4.1 Quantitative Analyse

In Untersuchungen mit dem Ziel, eine Optimierung der BBr_3 -Zugabe und der Reaktionszeit zu erreichen, wurde als Produkt der Etherspaltung stets Benzylbromid gefunden (Abb.10).

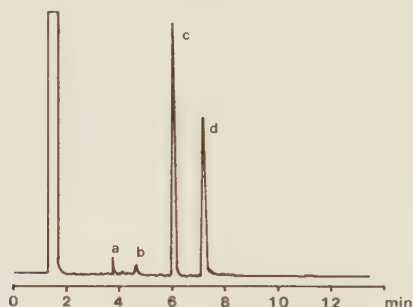


Abb.10: GC der Reaktionsprodukte von Benzyl-Cellulose (24) mit BBr_3 . Peaks: a=Benzaldehyd; b=Benzylalkohol; c=Benzylbromid; d=n-Tetradecan (interner Standard).

Dies steht in Übereinstimmung mit der Literatur^{90,96} und ist in der besonderen Stabilität des Benzyl-Carbokations begründet.

Eine systematische Variation der Reaktionszeit zeigte, daß die Umsetzung bereits nach einer Minute abgeschlossen ist (Abb.11).

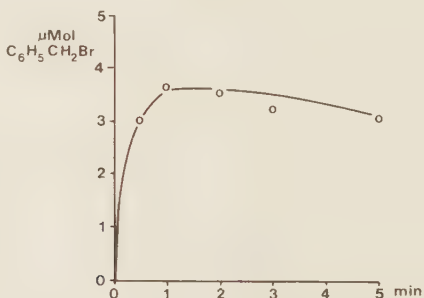


Abb.11: Variation der Reaktionszeit bei der Umsetzung von Benzyl-Cellulose (24) mit BBr_3 .

Nach der Optimierung der BBr_3 -Zugabe (Abb.12) wurden 3,67 μMol Benzylbromid/mg 24 gemessen. Auf eine Glucoseeinheit entfallen damit 0,8 Benzylgruppen.

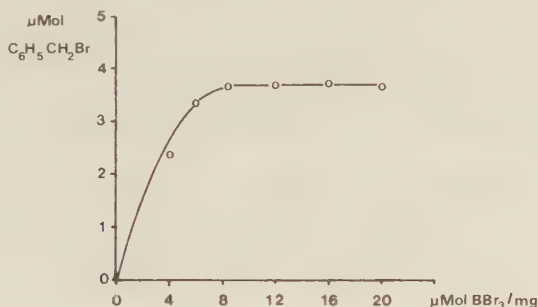


Abb.12: Ermittlung der optimalen BBr_3 -Menge zur Spaltung der Benzyl-Cellulose (24).

2.2.5 Charakterisierung von Hydroxypropyl-Dextran (25)

Hydroxypropyl-Dextran (25) wird unter den Bezeichnungen Sephadex LH* bzw. Sephasorb HP* kommerziell angeboten und unter anderem als Medium für die Gelchromatographie eingesetzt (Abb.13)⁹⁷⁻¹⁰⁰.

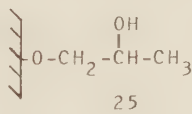


Abb.13: Struktur des Hydroxypropyl-Dextrans¹⁰¹

Zur Stabilisierung und zur Verbesserung des Quell- und Trocknungs-Verhaltens wurde das Produkt vom Hersteller mit 3-Chlor-1,2-epoxypropan quervernetzt⁷² (Abb.14).

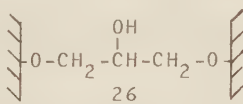
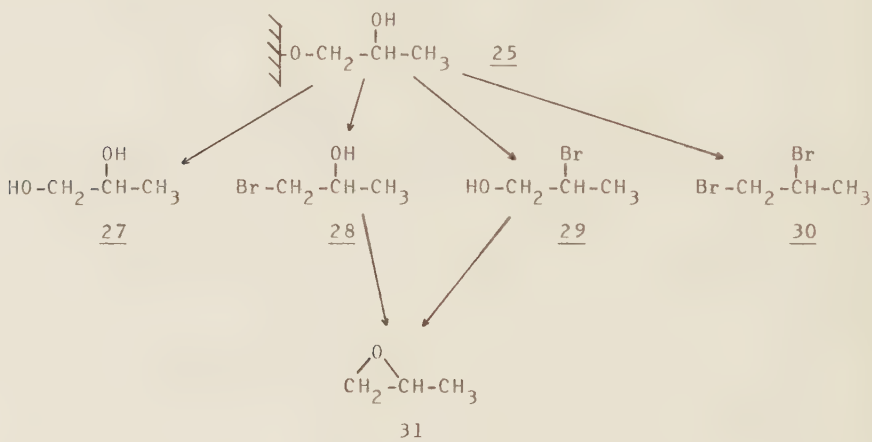


Abb.14: Quervernetzte Polysaccharide nach Reaktion mit 3-Chlor-1,2-epoxypropan⁷²

*Sephadex und Sephasorb sind eingetragene Warenzeichen der Pharmacia Fine Chemicals AB (Uppsala, Schweden)

2.2.5.1 Qualitative Analyse

Auf Grund der strukturellen Ähnlichkeit der Liganden mit der des Spacers von Octyl-Agarose (8), wurden zur Umsetzung mit BBr_3 die gleichen Reaktionsbedingungen wie dort gewählt. Die GC-Analyse der Spaltungsprodukte zeigte alle theoretisch möglichen Brom-bzw. Hydroxy-Derivate des Liganden (27-30), sowie 1,2-Epoxypropan (31) (Schema 10, Abb.15).



Schema 10: Spaltungsprodukte von Hydroxypropyl-Dextran(25) mit BBr_3

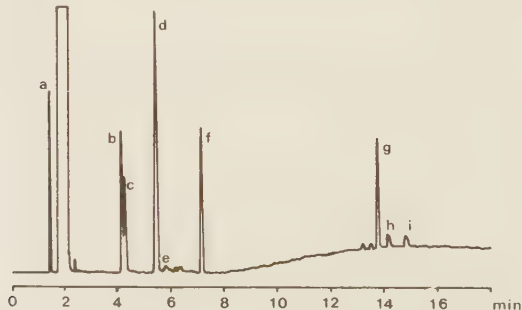


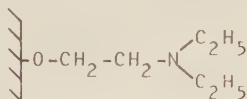
Abb.15: GC der Reaktionsprodukte des Hydroxypropyl-Dextrans(25) und der Quervernetzung (26) mit BBr_3 . Peaks: a=1,2-Epoxypropan; b=1,2-Propanediol; c=2-Brom-1-propanol; d=1-Brom-2-propanol; e=3-Brom-1,2-epoxypropan; f=1,2-Dibrompropan; g=1,3-Dibrom-2-propanol; h=2,3-Dibrom-1-propanol; i=1,2,3-Tribrompropan.

Als Reaktionsprodukte der Quervernetzung (26) wurden, wie bei den Spacern von 8 und 17, 1,3-Dibrom-2-propanol, 2,3-Dibrom-1-propanol, 1,2,3-Tribrompropan, sowie 3-Brom-1,2-epoxypropan gefunden (vergl. Schemata 7 und 9).

2.2.6 Versuche zur Charakterisierung von DEAE-Polysacchariden (32)

2.2.6.1 Struktur des DEAE-Liganden

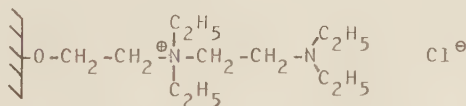
DEAE-Polysaccharide (32) besitzen Diethylaminoethyl-Gruppen und sind als schwache Anionenaustauscher in der Flüssigkeitschromatographie weit verbreitet¹ (Abb. 16).



32

Abb. 16: Struktur der DEAE-Polysaccharide¹⁰²

Bei der Herstellung der Materialien mit N,N-Diethyl-2-chlor-ethylammoniumchlorid (vergl. Schema 3) wird jedoch nicht nur 32 erhalten, sondern der Stickstoff kann auch anschließend zum quartären Ammoniumion 33 alkyliert werden¹⁰³ (Abb. 7).



33

Abb. 17: Struktur des Nebenprodukts bei der Synthese von DEAE-Polysacchariden¹⁰³

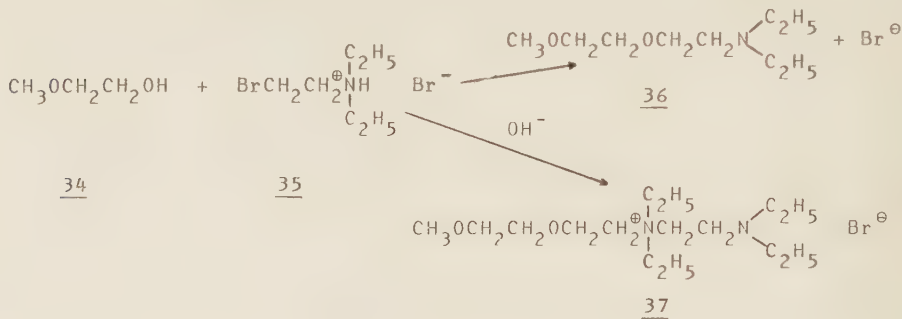
Je nach Reaktionsbedingungen kann dieser Vorgang auch dominieren; und Oligomerisierung ist ebenfalls nicht ausgeschlossen.

Während der Hersteller des DEAE-Dextrans das Verhältnis von geladenen Gruppen zu einfachen, tertiären Aminogruppen mit

2:1 angibt,¹⁰³ fanden Soignet et al.¹⁰⁴ keinen Hinweis auf quartäre Ammoniumverbindungen bei DEAE-Cellulosen.

2.2.6.2 Synthese und Reaktionsverhalten einer Modellverbindung (36)

Um das Reaktionsverhalten von β -Aminoethern mit BBr_3 zu untersuchen, wurde N,N-Diethyl-2-(2-methoxyethoxy)-ethylamin (36) als Modellverbindung aus 2-Methoxyethanol (34) und N,N-Diethyl-2-bromethylammoniumbromid (35) synthetisiert (Schema 11).



Schema 11: Synthese von N,N-Diethyl-2-(2-methoxyethoxy)-ethylamin (36) als Modellverbindung für die Umsetzung von DEAE-Polysacchariden (32) mit BBr_3

Durch die Bildung des Nebenprodukts 37, das nicht isoliert wurde, und durch die Hydrolyse von 35 (Schema 13) wurde 36 nur mit einer Ausbeute von 42% erhalten. Eine Strukturbestätigung wurde durch $^1\text{H-NMR}$, MS und IR erhalten.

Die Umsetzung von 36 oder des entsprechenden Hydrochlorids mit BBr_3 ergab in beiden Fällen 2-N,N-Diethylaminoethanol (42) und Ethandiol (18) als Produkte der Etherspaltung (Abb. 18). Das tertiäre Amin in 36 wurde durch BBr_3 , in Übereinstimmung mit der Literatur,⁸⁰ nicht verändert.

Bemerkenswert war das völlige Fehlen von bromierten Produkten, ohne die eine Etherspaltung nicht abgelaufen sein konnte.

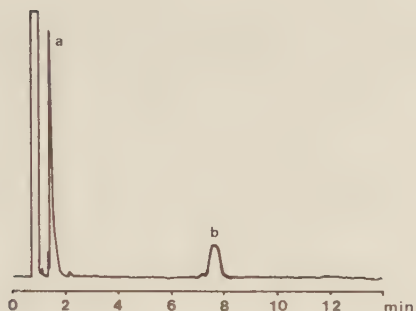
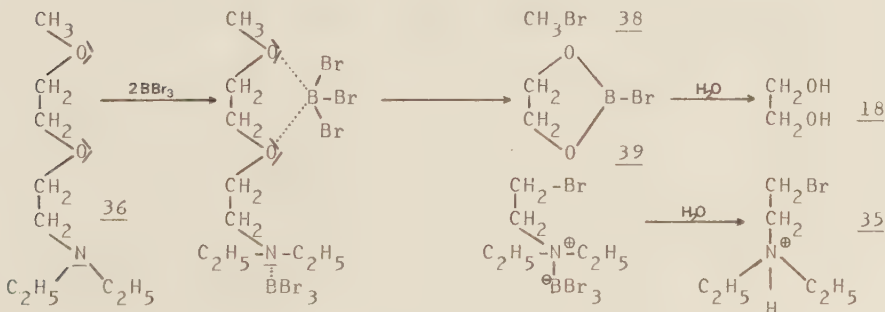


Abb.18: GC von Reaktionsprodukten der DEAE-Modellverbindung (36) mit BBr_3 . Peaks: a=2-N,N-Diethylaminoethanol; b=Ethandiol

Nimmt man an, daß die Bildung des cyclischen Borsäureesters⁹⁰ (39) mit Ethandiol (18) anderen Estern gegenüber begünstigt ist, würden bei der Umsetzung von 37 mit BBr_3 bevorzugt Brommethan (38), Ethandiol (18) und N,N-Diethyl-2-bromethylammoniumbromid (35) entstehen (Schema 12).



Schema 12: Annahme eines cyclischen Borsäureesters (39) bei der Umsetzung der DEAE-Modellverbindung (36) mit BBr_3 als Erklärung für die beobachteten Reaktionsprodukte

Das flüchtige Brommethan (38) ist zum Zeitpunkt der Analyse nicht mehr meßbar. Das Hydrobromid 35 muß für die GC-Untersu-

Ag_2O ein Anionenaustausch vorgenommen wird, und anschließend die thermische Zersetzung der entsprechenden Hydroxide erfolgt, wurde als Vereinfachung hier die Kombination beider Arbeitsschritte durch Einsatz einer KOH-Schmelze gewählt. Generell konkurrieren dabei Eliminierung und Substitution miteinander; der jeweils dominierende Mechanismus wird durch die Struktur der Substituenten am Stickstoff und die Reaktionsbedingungen bestimmt. Während bei der Eliminierung der β -Wasserstoff angegriffen wird, setzt bei der Substitution der Angriff am α -Kohlenstoff ein.

Die jeweils zum quartären Stickstoff β -ständigen, elektro-negativen Substituenten sollten hier eigentlich die Eliminierung unter Bildung von Alken und tertiärem Amin begünstigen.¹⁰⁵

Die Umsetzung von DEAE-Dextran und -Cellulose mit geschmolzenem KOH bei 200°C zeigte jedoch in beiden Fällen neben etwas N,N,N',N'-Tetraethylethyldiamin (44) hauptsächlich 42 (Abb.19).

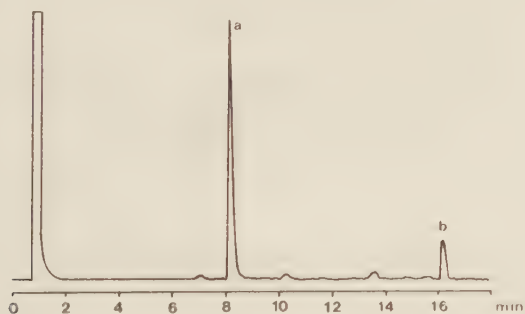


Abb.19: GC der Reaktionsprodukte von DEAE-Polysacchariden mit KOH bei 200°C . Peaks: a=2-N,N-Diethylaminoethanol (42); b=N,N,N',N'-Tetraethylethyldiamin (44)

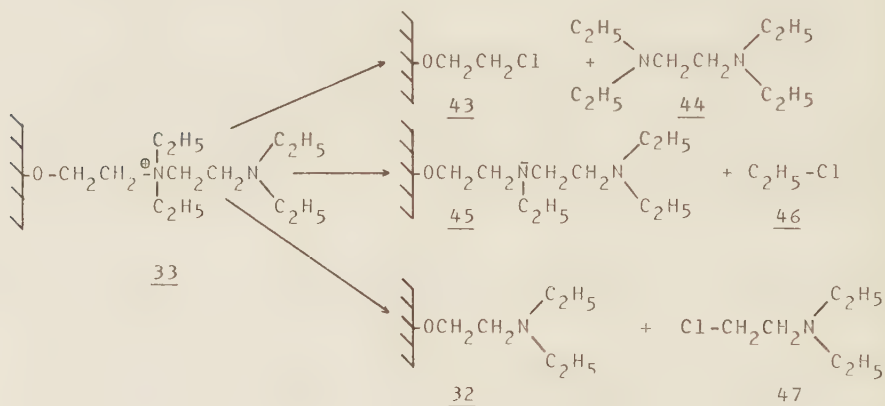
Dies Ergebnis legt einen Reaktionsverlauf nach dem Substitutionsprinzip mit Angriff auf die beiden zum positiven Stickstoff α -ständigen Kohlenstoffatome nahe.

Die sonst vernachlässigbare Umkehrung der N-Alkylierung mit Substitution durch das Halogenid-Anion nimmt bei hohen Temperaturen beträchtlich zu^{106,107} (Schema 14).



Schema 14: Umkehrung der N-Alkylierung bei quartären Ammoniumverbindungen¹⁰⁶

Bei DEAE-Polysacchariden der Struktur 33 führt dieser Vorgang zu drei verschiedenen Alkylchloriden (43, 46, 47) (Schema 15), die in der KOH-Schmelze sofort zu den entsprechenden Alkanolen umgesetzt werden.



Schema 15: Produkte aus der Umkehrung der N-Alkylierung bei DEAE-Polysacchariden (33)

Für die GC-Analyse sind lediglich Tetraethylethylendiamin (44) und das aus 47 durch Hydrolyse (Schema 13) entstandene Diethylaminoethanol (42) von Bedeutung; alle anderen Produkte sind entweder an den polymeren Träger gebunden (43, 45, 32) oder aber flüchtig (46).

Das Versagen der BBr_3 -Methode und die mit KOH erhaltenen Ergebnisse zeigen übereinstimmend, daß die untersuchten DEAE-Polysaccharide entgegen den Herstellerangaben ausschließlich quartäre Ammoniumionen besitzen.

Damit müssen diese Produkte als starke Anionenaustauscher bezeichnet werden.

Die KOH-Methode bietet keine Unterscheidungsmöglichkeit zwischen der Struktur 33 und weiter oligomerisierten Liganden.

Die beobachtete Dominanz der Substitution gegenüber der Eliminierung zeigt, daß das zugehörige Anion vermutlich ein Halogenid und kein Hydroxid ist.

2.3 Polysaccharid-Derivate mit Isoharnstoff-Bindung

2.3.1 Die Spaltung der Isoharnstoff-Bindung

Über die Chemie der Isoharnstoffe ist wenig bekannt;¹⁰⁸⁻¹¹¹ so wurde auch über Reaktionsprodukte mit BBr_3 bisher nichts berichtet.

Bei der Umsetzung käuflicher Isoharnstoff-Derivate mit BBr_3 ließen sich im GC keine Signale nachweisen.

Deshalb wurde nach alternativen Methoden für die Abspaltung des Liganden gesucht.

Tesser et al.¹¹² untersuchten die hydrolytische Stabilität von Polysaccharid-Derivaten mit Isoharnstoff-Bindung und fanden, daß O-substituierte Isoharnstoffe im Säuren stabil sind, jedoch in alkalischem Milieu zu den freien Aminen und N-substituierten Harnstoffen zerfallen.

Für die Analyse ist die Freisetzung des Liganden als primäres Amin gegenüber der eines substituierten Harnstoffes vorzuziehen, da die Amine von der Kopplungsreaktion her als Referenz zur Verfügung stehen (vergl. Schema 5, S.9).

Bei Versuchen mit 50%iger KOH an Aminoalkylagarosen konnten die entsprechenden Alkylamine im GC nachgewiesen werden.

Über das Entstehen von substituierten Harnstoffen konnte dagegen keine Aussage getroffen werden, da diese trotz Derivatisierung im GC nicht meßbar waren.

2.3.2 Charakterisierung von Aminoethyl-Agarose (48)

Aminoethyl-Agarose (48) (Abb.20) wird zur Trennung von Proteinen eingesetzt (Hydrophobe Chromatographie⁸³) und wurde aus BrCN-aktivierter Agarose (4) und Hexylamin nach Schema 5 (S.9) synthetisiert.*

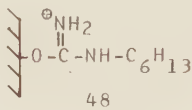


Abb.20: Struktur der Aminoethyl-Agarose¹¹³

Aminoethyl-Agarose (48) wurde mit wässriger KOH (50%) umgesetzt und die Reaktionszeit variiert. Das freigesetzte Hexylamin wurde über einen internen Standard quantitativ im GC ausgewertet (Abb.21).

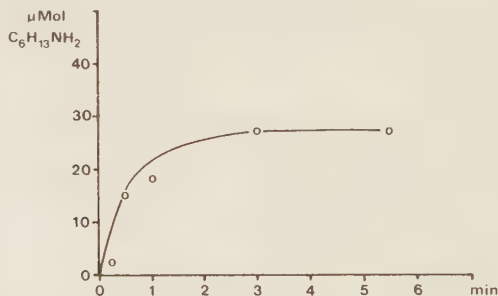


Abb.21: Ermittlung der optimalen Reaktionszeit von Aminoethyl-Agarose (48) mit 50% KOH bei 20°C.

Bereits nach fünf Minuten bei 20°C ist unter diesen Bedingungen maximale Ligandausbeute festzustellen.

Die Auswertung der GC-Ergebnisse zeigte neben Hexylamin auch etwas Octylamin (20%) (Abb.22).

*Herrn R.de Wit, Leiden/Niederlande danke ich für die Überlassung der Probe

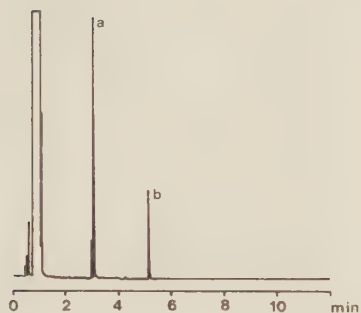


Abb.22: GC der Reaktionsprodukte einer alkalischen Hydrolyse von Aminoethyl-Agarose (48). Peaks:a=Hexylamin;b=Octylamin

Diese Verunreinigung konnte auch in dem für die Synthese benutzten Hexylamin nachgewiesen werden. Störende Signale der teilweise abgebauten Agarosematrix (Braunfärbung) wurden nicht beobachtet.

2.3.3 Charakterisierung von Aminooctyl-Agarose (49)

Aminooctyl-Agarose (49) wird ebenfalls für die Hydrophobe Chromatographie eingesetzt und ist kommerziell erhältlich (Abb.23).

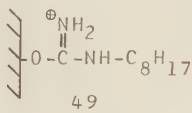


Abb.23: Struktur der Aminooctyl-Agarose¹¹³

Die Umsetzung von 49 mit 50%iger, wässriger KOH zeigte neben Octylamin eine weitere, unbekannte Komponente, die sich jedoch bereits beim Waschen des unhydrolysierten Produkts mit Pentan nachweisen ließ und damit wohl als ein Additiv zu betrachten ist (Abb.24).

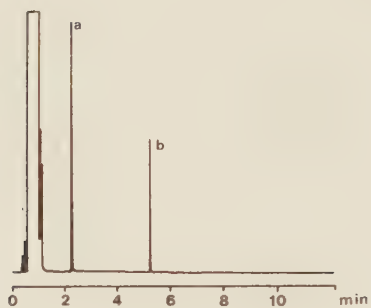


Abb.24: GC der Reaktionsprodukte einer alkalischen Hydrolyse von Aminooctyl-Agarose (49).
Peaks: a=?; b=Octylamin

3. CHARAKTERISIERUNG DERIVATISIERTER KIESELGELE

3.1 Strukturelle Grundlagen

3.1.1 Struktur des Kieselgels

Kieselgel besitzt die stöchiometrische Zusammensetzung SiO_2 . Im Gegensatz zu den natürlich vorkommenden Spezies, wie etwa Quarz, Cristobalit, Opal oder Kieselgur sind Kieselgele im industriellen Großmaßstab synthetisch dargestellte Produkte. Ausgehend vom Natriumsilikat wird dabei Monokieselsäure in mehreren Stufen zum sogenannten Hydrogel polymerisiert. Unter Wasserentzug entsteht daraus ein hartes, poröses Xerogelgerüst, das als Kieselgel bezeichnet wird.¹¹⁴

Auch durch Hydrolyse von SiCl_4 kann Kieselgel erhalten werden.^{115 116}

Die Darstellungsbedingungen haben Einfluß auf Partikelgröße¹¹⁷, Porenform, Porenvolumen¹¹⁴, Oberfläche und auch auf die Teilchenform; diese kann irregulär oder sphärisch sein.²¹

Ebenfalls im Handel sind Produkte, deren nicht poröser, sphärischer Glaskern von einer dünnen Kieselgelschicht als Kugelschale überzogen ist.¹¹⁸

Alle diese Parameter, die man als physikalisch bezeichnen kann, beeinflussen das chromatographische Verhalten erheblich.

Die Struktur des Kieselgels ist gekennzeichnet durch ein dreidimensionales, polymeres Netzwerk, in welchem jedes Siliziumatom annähernd tetraedrisch von vier Sauerstoffatomen umgeben ist.

An der Oberfläche befinden sich freie Hydroxylgruppen (Silanolgruppen), die für das hydrophile Verhalten des Materials verantwortlich sind¹¹⁵ (Abb.25).

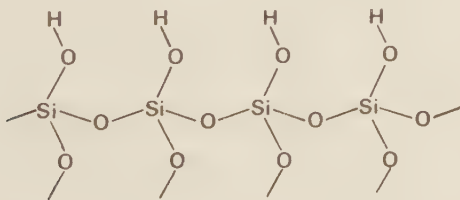


Abb.25: Strukturausschnitt des Kieselgels¹¹⁵

Diese Strukturparameter wurden auch durch ^{29}Si -NMR Messungen bestätigt.¹¹⁹

Neben der großen technischen und wirtschaftlichen Bedeutung¹¹⁵, wird Kieselgel auf Grund seiner guten mechanischen Eigenschaften vor allem in Form seiner Derivate in der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) eingesetzt. Limitiert wird die Anwendung von Kieselgelprodukten jedoch durch ihre hydrolytische Empfindlichkeit im alkalischen Bereich. Bereits oberhalb pH 9 tritt Zersetzung durch Spaltung der Siloxanbindung ein.³⁰

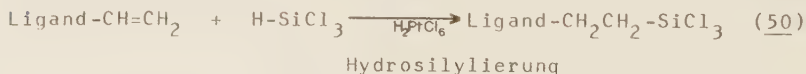
3.1.2 Kieselgel-Derivate mit Si-C Bindung

Die an der Oberfläche des Kieselgels befindlichen Silanolgruppen können vielfältige Reaktionen eingehen. Die Derivate besitzen in der Regel Si-O-C, Si-N oder Si-C Bindungen, deren hydrolytische Stabilität in eben dieser Reihenfolge zunimmt.^{30,64}

Für die Belange der HPLC haben sich daher allgemein Si-C gebundene Liganden durchgesetzt.

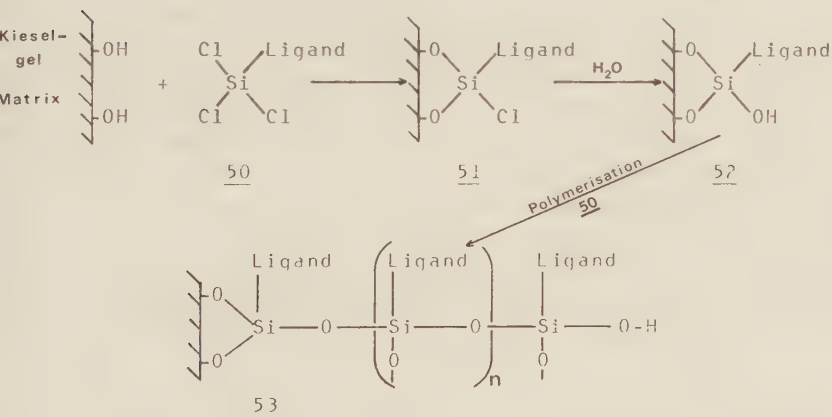
Produkte mit Si-O-C Bindungen haben gewisse Bedeutung als stationäre Phasen in der GC, wo hydrolytische Prozesse in der Regel vernachlässigbar sind.

Zur Derivatisierung des Kieselgels wird der Ligand beispielsweise als Trichlorsilan (50) über eine Siloxanbrücke an der polymeren Matrix befestigt. Die Hydrosilylierung oder eine Variante der Grignard-Reaktion sind übliche Verfahren zur Knüpfung einer Si-C Bindung¹²⁰ (Schema 16).



Schema 16: Synthesemethoden zur Darstellung von Ligand-Trichlorsilanen (50) zur Derivatisierung der Kieselgeloberfläche

Bei der Umsetzung des an den Liganden gekoppelten Trichlor-silans (50) mit der Kieselgeloberfläche ist es aus steri-schen Gründen unwahrscheinlich, daß alle drei Halogenatome mit jeweils benachbarten Silanolgruppen reagieren können.⁵⁶ Nicht umgesetzte Siliziumhalogenide (51) jedoch hydroly-sieren leicht zu neuen Silanolgruppen (52), an denen im Sin-ne einer Polymerisation¹²¹ wieder substituiert werden kann (53) (Schema 17). Auf diese Weise lassen sich derivatisier-te Kieselgele (53) mit über 20% Kohlenstoff (w/w) herstel-len. Die nicht umgesetzten neuen Silanolgruppen an 53 kön-nen jedoch zu unerwünschten Effekten in der Chromatogra-phie führen.^{35,122}



Schema 17: Reaktion des Liganden als Trichlorsilan (50) mit der Kieselgeloberfläche; Neuentstehung von Silanolgruppen durch Hydrolyse und anschließende Polymerisation (53). (Verändert nach 56)

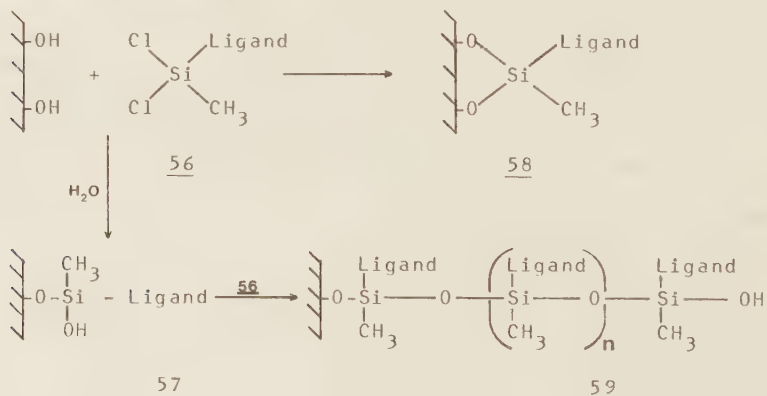
Soll eine Polymerisation (53) verhindert werden, kann die Derivatisierung des Kieselgels nicht mit einem Trichlor-silan (50) (trifunktionelles Silan) erfolgen, sondern muß mit einem Monochlorsilan (monofunktionelles Silan) (54) durchgeführt werden.^{35,123} Ein solches Silan enthält zwei weitere Si-C Bindungen, in den meisten Fällen als Methyl-gruppen (Schema 18).



Schema 18: Derivatisierung der Kieselgeloberfläche mit einem monofunktionellen Silan (54) (Verändert nach 56)

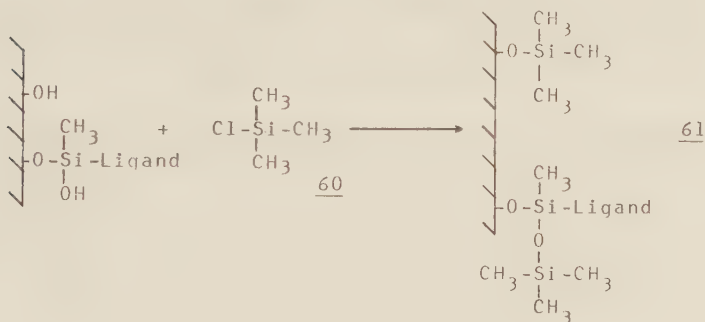
Vorteil dieser Derivatisierungsmethode ist ein monomeres, strukturell genau definiertes Endprodukt (55). Als Nachteil muß eine wesentlich niedrigere Beladung mit dem Liganden in Kauf genommen werden; ein Effekt, der durch die niedrigere Reaktivität von Monochlorsilanen noch verstärkt werden kann. Nach Unger¹¹⁵ sind bei Verwendung monofunktioneller Silane maximal 4,5 μmol Substituent pro m^2 Kieselgel zu erreichen, ein Wert, der unter anderem noch durch die Größe des jeweiligen Liganden bestimmt wird.

Ein Kompromiß zwischen der Zurückdrängung der Polymerisation und hoher Reaktivität läßt sich bei Verwendung eines difunktionellen Silans (56) erzielen, ein Verfahren, daß offenbar von vielen Herstellern derivatisierter Kieselgele benutzt wird (Schema 19).



Schema 19: Derivatisierung der Kieselgeloberfläche mit einem difunktionellen Silan (56); als Nebenreaktion ist Hydrolyse (57) und nachfolgend Polymerisation möglich (59). (Verändert nach 56)

Zur Blockierung von Silanolgruppen, die entweder bei der Reaktion mit dem Silan nicht umgesetzt wurden oder bei der Verwendung von di- bzw. tri-funktionellen Silanen neu entstanden sind, wird das Material oft ein zweites Mal mit Trimethylchlorsilan (TMCS) (60), dem einfachsten monofunktionellen Silan behandelt (Endcapping (61)³¹). Durch diese Technik werden auch Silanolgruppen erreicht, die während des Hauptverfahrens aus sterischen Gründen nicht umgesetzt wurden; neue Silanolgruppen entstehen dabei nicht (Schema 20).



Schema 20: Blockierung von restlichen Silanolfunktionen durch Einführung von Trimethylsilylgruppen (TMS) mittels Trimethylchlorsilan (60)

Neben dem Einsatz von Halogensilanen (50,54,56), werden auch Alkoxysilane zur Derivatisierung von Kieselgeloberflächen benutzt. Für sie gelten dieselben Feststellungen, jedoch ist ihre Reaktivität wesentlich geringer.¹²⁴ Auch Cyclosiloxane wurden eingesetzt.¹²⁵

Allen Liganden ist gemeinsam, daß sie über eine Si-O-Si-C Bindungskombination an den Träger fixiert vorliegen.

Aus den bisherigen Ausführungen läßt sich entnehmen, daß bei der Herstellung derivatisierter Kieselgele eine Vielzahl von Parametern variabel ist, welche letztlich Trennleistung und Charakteristik einer damit gepackten Trennsäule bestimmen.

Neben den physikalischen Parametern, wie Oberfläche und Po-

renggröße sind dies vor allem:

- Typ des Liganden
- Reinheit des verwendeten Silans
- Substitutionsgrad
- Funktionalität des Silans
- monomere/polymere Substitution
- Anzahl der restlichen Silanolgruppen

Schließlich ist auch die Säulen-Packtechnik von Bedeutung.¹²⁶

3.2 Charakterisierung kommerziell erhältlicher Kieselgel-Derivate

3.2.1 Die Spaltung der Si-C Bindung mit KOH

In Fortsetzung des analytischen Grundprinzips dieser Arbeit, war zur Entwicklung einer neuen Methode zur Analyse derivatisierter Kieselgele die Entscheidung zwischen der Spaltung der Si-O-Si oder der Si-C Bindung zu treffen. Da Verzele et al.⁵⁷ bei der Hydrolyse der Siloxanbindung über 20 verschiedene Signale erhielten, die teilweise nicht identifiziert werden konnten, konzentrierten wir uns auf die Spaltung der Si-C Bindung.

Bindungen zwischen Silizium und Kohlenstoff sind schwach polarisiert im Sinne Si^+-C^- und lassen sich sowohl nucleophil als auch elektrophil angreifen. Chvalovsky¹²⁷ und Eaborn et al.¹²⁸ beschreiben zahlreiche Möglichkeiten, diesen Bindungstyp zu spalten.

Wegen ihrer Einfachheit und Wirkung haben sich darunter besonders der Einsatz konzentrierter Schwefelsäure¹²⁹ und die Verwendung von Alkalimetallhydroxid-Schmelzen¹³⁰ zur Abspaltung von Alkylgruppen in Organosilizium-Verbindungen bewährt. Da jedoch Schwefelsäure in etlichen Vorversuchen mit verschiedenen Kieselgelderivaten Verkohlungeffekte zeigte, wurde die Verwendung von geschmolzenem Kaliumhydroxid vorgezogen.

Kaliumhydroxid greift Si-C Bindungen unter Freisetzung des entsprechenden Kohlenwasserstoffs und Kaliumsilikat-Bindung an^{127,128} (Schema 21).



Schema 21: Produkte der KOH-Schmelze von Organosilizium-Verbindungen

Auch die polymere SiO_2 -Matrix wird während der Umsetzung zu Kaliumsilikat abgebaut und stört bei der GC-Analyse nicht.

Die Reaktion wird durch -I-Substituenten am Silizium, wie etwa Sauerstoff, erleichtert und so ist zu erwarten, daß die Reaktionsbereitschaft der Si-Ligand Bindung in Richtung vom trifunktionell-zum monofunktionell-substituierten Kieselgel abnimmt.

3.2.2 Synthese und Reaktionsverhalten derivatisierter Modell-Kieselgele (62-64)

Die Eignung der KOH Methode für die Analyse derivatisierter Kieselgele wurde zunächst mit selbstdargestellten* mono-, di- und tri-funktionell substituierten Materialien geprüft, um strukturelle Unsicherheiten, die beim Einsatz kommerzieller Materialien bestanden hätten, von vornherein ausschließen zu können.

Auf Grund ihrer Bedeutung in der HPLC wurden als Liganden Octyl- bzw. Octadecyl-Gruppen (RP-8 bzw. RP-18) gewählt. Die Synthese wurde nach den Schemata 17 - 19 mit den entsprechenden Mono-, Di- und Tri-chloralkylsilanen durchgeführt⁵⁰ und die RP-18 Materialien (62-64) durch die Bestimmung des Kohlenstoffgehaltes charakterisiert (Tab.2). Der Substitutionsgrad wurde unter Berücksichtigung der Methylgruppen aus den % C-Werten berechnet.

*Herrn C.Lüllmann, Universität Bremen, danke ich für die Ausführung der Synthesen.

Tab.2: Kohlenstoff-Prozentwerte und Substitutionsgrad
für selbstsynthetisierte RP-18 Kieselgele (62-64)

Modell-Kieselgel	Elementaranalyse [% C]	Substitutionsgrad [μMol / mg]
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{---} \text{Si} - \text{CH}_2(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_3 \\ \\ \text{O} \end{array}$	<u>62</u> 19,26	0,891
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{---} \text{Si} - \text{CH}_2(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	<u>63</u> 18,99	0,832
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{---} \text{Si} - \text{CH}_2(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	<u>64</u> 15,93	0,663

Zunächst wurden die beiden trifunktionell substituierten RP-8 und RP-18 Kieselgele (62) für jeweils zwei Stunden mit geschmolzenem KOH umgesetzt. Da Karch⁶⁵ für RP-18 Kieselgele eine Temperaturstabilität bis 220°C angibt, wurde für die ersten Umsetzungen eine Reaktionstemperatur von 200°C gewählt. Schon bald wurde deutlich, daß die eingesetzten Proben kaum von der Kaliumhydroxidschmelze benetzt wurden. Trotzdem ließ sich nach dem Abkühlen aus einem Pentan-Extrakt im GC etwas n-Octan bzw. n-Octadecan nachweisen. Auf der Suche nach geeigneten, inerten Lösungsvermittlern wurden zunächst verschiedene Polyethylenglykole eingesetzt. Die Ausbeute an Alkan stieg jedesmal stark an, jedoch traten infolge des hohen Siedepunktes dieser Verbindungen Schwierigkeiten bei der GC-Analyse auf.

Schließlich wurde mit Triethylenglykoldimethylether (TEGDE) ein hervorragend geeignetes Medium gefunden, welches im GC nicht störte und die drastischen Reaktionsbedingungen bis auf geringfügige Abbauprodukte ohne Zerstörung überstand. Der Einsatz von TEGDE ergab, vermutlich auf Grund der guten Benetzung der Probe mit der KOH-Schmelze und der starken

Basizität des KOH in aprotischen Lösungsmitteln^{52,131} eine Steigerung der Ligand-Ausbeute um den Faktor $5 \cdot 10^3$ gegenüber einem lösungsmittelfreien Ansatz.

Die Auswertung der erhaltenen Chromatogramme zeigte neben Octan, bzw. Octadecan jeweils noch ein kleines, späteres Signal (Signal d aus Abb.26), daß zunächst nicht zugeordnet werden konnte und besonders ausgeprägt beim RP-18 Material zu beobachten war (Abb.26).

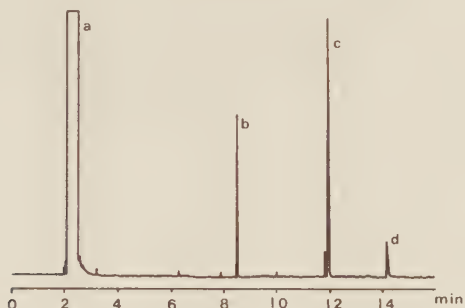


Abb.26: GC der Reaktionsprodukte von trifunktionell substituiertem RP-18 Kieselgel (62) mit KOH bei 200°C in TEGDE-Suspension. Peaks: a=Pentan (Lsgm.); b=TEGDE; c=n-Octadecan; d=?

Eine GC-MS Untersuchung bewies, daß es sich bei diesen Reaktionsprodukten um die entsprechenden Alkanole (1-Octanol/1-Octadecanol) handelte; dies konnte auch durch Kontrolle mit Referenzsubstanzen im GC bestätigt werden.

Das Auftreten von Alkoholen während der KOH-Umsetzung, von Organosiliziumverbindungen ist bisher nicht beschrieben worden.

Auf Grund der Polarisierung der Si-C Bindung ist eine nucleophile Substitution des Kohlenstoffs durch OH^- schwer vorstellbar. Plausibler erscheint als Erklärung eine thermisch induzierte, homolytische Spaltung dieser Bindung und anschließender Rekombination mit OH-Radikalen. Adrianov et al.¹³² zeigten, daß die thermische Stabilität von Organosiliziumverbindungen mit zunehmender Länge der Alkylkette sinkt.

Bei niedrigen Umsetzungstemperaturen war die Alkanolbildung nicht zu beobachten.

Die Untersuchung der difunktionell substituierten RP-8 und RP-18 Kieselgele (63) brachte keine neuen Erkenntnisse; wieder entstanden Alkan und Alkanol.

Ein völlig anderes Bild ergab jedoch die KOH-Behandlung der monofunktionell derivatisierten RP-8/18 Materialien (64). Ein GC, aufgenommen von RP-8 Kieselgel nach einer KOH-Schmelze ohne TEGDE, zeigte lediglich Spuren von Octan und kein Octanol, dafür aber zwei unbekannte, kräftige Signale mit wesentlich höherer Retentionszeit (Abb.27).

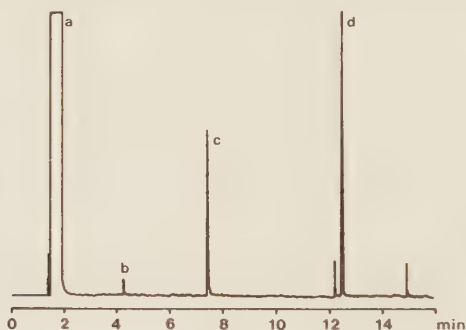
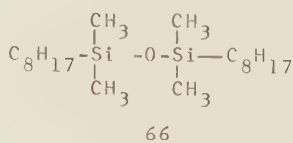
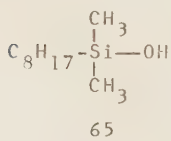


Abb.27: GC der Reaktionsprodukte von monofunktionell substituiertem RP-8 Kieselgel nach KOH Schmelze bei 200°C. Peaks: a=Pentan (Lsgm.); b=n-Octan; c=? m/c 188; d=? m/e 358

Eine GC-MS Untersuchung ergab Massen von m/e 188 bzw. 358 mit Si₁- bzw. Si₂-Isotopenmustern. Auf Grund der beobachteten Fragmentierung und ergänzend ausgewerteten ¹H-NMR- und IR-Spektren ließ sich das Signal mit m/e 188 als Dimethyloctylsilanol (65) und das mit m/e 358 als 1,1,3,3-Tetramethyl-1,3-dioctyldisiloxan (66) identifizieren.¹³³



Beide Verbindungen wurden bisher nicht beschrieben. Erwartungsgemäß wurden bei der lösungsmittelfreien Umsetzung des RP-18 Materials (64) ebenfalls Silanol und Disiloxan gefunden. Wurde TEGDE zur Verbesserung der Benetzung verwendet, wurde bei beiden Kieselgeltypen die Entwicklung des Disiloxans zu Gunsten des Silanols zurückgedrängt. Literaturrecherchen am Beispiel des einfachsten monofunktionellen Silans, der Trimethylsilyloxy-Gruppe (61), ergaben, daß von den meisten Autoren unter den hier angewandten Bedingungen stets nur Methan gefunden wurde¹²⁷; lediglich Franc et al.¹³⁰ beschrieben das zusätzliche Auftreten von Trimethylsilanol und Hexamethyldisiloxan.

Die Befunde zeigen, daß die Reaktivität der Si-C Bindung gegenüber KOH stark erniedrigt wird, wenn anstelle des Sauerstoffs zwei weitere Alkylreste an Silizium gebunden sind. Unter den gewählten Bedingungen wird dann vorzugsweise die Siloxanbindung gespalten. In protischen Lösungsmitteln würde dagegen die Methanabspaltung Hauptreaktion bleiben.¹³⁴

Diese Tatsache gestattet es, mit einfachen Mitteln festzustellen, ob ein mit Alkylgruppen derivatisiertes Kieselgel monofunktionell (55) oder aber di- bzw. tri-funktionell (52, 58) substituiert vorliegt.

Bei den di- bzw. mono-funktionell derivatisierten Proben mußte zusätzlich mit dem Auftreten von etwas Methan gerechnet werden, das jedoch unter normalen Analysebedingungen auf Grund seiner Flüchtigkeit nicht im GC sichtbar wird. Mittels einer technischen Variante, der Headspace-GC, konnte jedoch in beiden Fällen ein Signal für Methan nachgewiesen werden.

Nachdem an selbstsynthetisierten RP Kieselgelen (62-64) die Reaktionsprodukte mit KOH aufgeklärt worden waren, wurden kommerziell angebotene Produkte im Hinblick auf Funktionalität und Struktur ihrer Liganden analysiert.

Zur Verfügung standen zahlreiche RP Materialien, starke und schwache Ionenaustauscher, sowie Produkte mit NO_2 -, CN-, Diol und Amid-Gruppen.

Für RP-18 Kieselgele wurde zudem exemplarisch eine Quantifizierung durchgeführt.

3.2.3 Charakterisierung von RP-18 Kieselgelen

RP-18 Kieselgele unterschiedlicher Herkunft, darunter etliche Batch-Muster, wurden mit KOH und TEGDE bei 200°C umgesetzt.

Die Resultate in Tabelle 3 zeigen, daß bei allen untersuchten Proben stets n-Octadecan und 1-Octadecanol gebildet wurden (vergl. Abb. 26). Dimethyloctadecylsilanol und 1,1,3,3-Tetramethyl-1,3-dioctadecyldisiloxan, als Hinweis auf monofunktionell gebundene Liganden, konnten nicht nachgewiesen werden, sodaß alle Materialien offensichtlich über di- bzw. tri-funktionelle Silane synthetisiert worden waren.

In Übereinstimmung damit wurde bei einer separaten Headspace-GC Untersuchung für alle Proben Methan gefunden.

Während der Messungen wurde bereits deutlich, daß der Substitutionsgrad der Materialien erhebliche Unterschiede aufwies und eine genauere Bestimmung dieses Parameters sinnvoll erschien.

3.2.3.1 Optimierung der Reaktionsbedingungen

Bevor jedoch die eigentliche Quantifizierung durchgeführt werden konnte, mußten zunächst die Reaktionsbedingungen soweit optimiert werden, daß eine quantitative Abspaltung für di- und tri-funktionell gebundene Liganden gewährleistet war.

Zu diesem Zweck wurden nochmals die selbst hergestellten RP-18 Materialien (62, 63) eingesetzt und zunächst die Reaktionsparameter für den trifunktionellen Typ (62) systematisch variiert.

Während bei 10mg Probeneinwaage und KOH-Überschuß eine optimale Ligandausbeute bereits bei Zugabe von 100 µl TEGDE erreicht war, konnte durch größere Volumina das Verhältnis Alkan/Alkanol verschoben werden (Abb. 28).

Tabelle 3: Kommerziell erhältliche RP-18 Kieselgele und ihre Liganden.
GC-Bestimmung als Alkan/Alkanol nach KOH-Schmelze bei 200°C in TEGDE-Suspension.

Probe	Batch Nr.	Partikel-Größe [µm]	Strukturhinweis des Herstellers	Produkte der KOH-Schmelze	Struktur des Liganden
Fertigplatten RP-18	2502566	5			
HPTLC-Fertigplatten RP-18	Hp/Sch 451	5			
Kieselgel 60 C ₁₈ RP	7R20459	10			
Kieselgel 60 C ₁₈ RP	Ch-B2174	10			
LiChroprep RP-18	8572024	25-40			
LiChrosorb RP-18	091839*	5			
LiChrosorb RP-18	VV 2053	5			
LiChrosorb RP-18	VV 1187	5			
LiChrosorb RP-18	VV 1220	7		Methan	
LiChrosorb RP-18	VV 1106	10	≡Si-C ₁₈ H ₃₇	n-Octadecan	≡Si-C ₁₈ H ₃₇
LiChrosorb RP-18	VV 1827	10		1-Octadecanol	
LiChrosorb RP-18	VV 2249	10			
Nucleosil 7 C ₁₈	3022	7			
ODS Hypersil	11/1067	5			
ODS SIL-X-5	-	5			
ODS SIL-X-10	-	10			
ODS SIL-X-10	-	10			
Polygosil 60-5 C ₁₈	810606*	5			
Spherisorb S5 ODS C ₁₈	18/157	5			
VYDAC 201 RP**	-	30-44			

* Säulenr.

** Glasperlen, kein Kieselgel

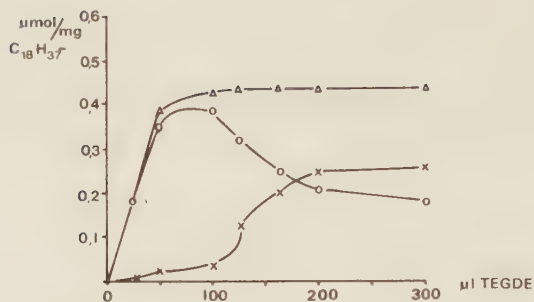


Abb. 28: Ligandausbeute in Abhängigkeit vom Volumen des Lösungsvermittlers TEGDE bei KOH-Schmelze von RP-18 Kieselgel für 2h bei 200°C. (o= Octadecan; x= Octadecanol; Δ= Summenplot)

Eine Variation der Reaktionstemperatur zeigte, daß optimale Ausbeuten im Bereich von 200-220°C zu erwarten waren (Abb. 29).

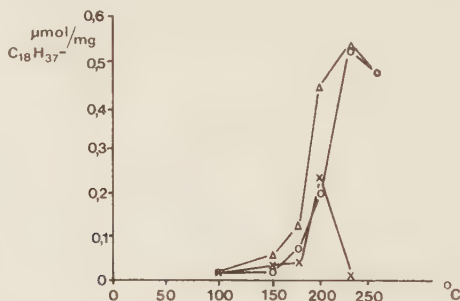


Abb. 29: Ligandausbeute als Funktion der Reaktionstemperatur bei KOH-Schmelze von RP-18 Kieselgel für 2h mit 200 μl TEGDE. (o= Octadecan; x= Octadecanol; Δ= Summenplot)

Bei weiterer Temperaturerhöhung setzte eine pyrolytische Zersetzung des Liganden an der Kieselgelmatrix unter Braunfärbung und charakteristischem Geruch ein.

Dieser Vorgang ließ sich auch mit ungebundenem Octadecan und underivatisiertem Kieselgel reproduzieren.

Weitere Untersuchungen über Reaktionszeit und KOH-Menge ergaben schließlich optimale Arbeitsbedingungen zur Analyse

trifunktionell substituierter RP-18 Kieselgele (62):

10 mg Probe, 100 mg KOH, 200 µl TEGDE, 216°C, 2h

Ähnliche Ergebnisse wurden für Kieselgel mit difunktionell gebundenem Liganden (63) erhalten.

Diese Bedingungen führten jedoch nur in offenen Reaktionsgefäßen aus Glas oder Quarz zu guten Ergebnissen. Nickel- oder Teflon-Gefäße erwiesen sich als völlig ungeeignet, da die Ausbeute an Ligand hier sehr gering war. Eine befriedigende Erklärung hierzu steht noch aus.

3.2.3.2 Quantitative Analyse

Die käuflichen RP-18 Materialien wurden nun in einem zweiten Durchgang mit dem optimierten Verfahren erneut untersucht.¹³⁵ Die Quantifizierung erfolgte über die Methode des internen Standards (n-Heptadecan). Für drei Materialien wurde zusätzlich der Kohlenstoffgehalt bestimmt.

Die Auswertung der erhaltenen Meßwerte (Tab.4) zeigte für die untersuchten Proben sehr unterschiedliche Ergebnisse. Die gemessenen Ligandkonzentrationen lagen zwischen 0,03 und 0,8 µMol/mg und zeigten bis auf zwei Ausnahmen relative Standardabweichungen besser als 3% für je 10 Bestimmungen.

Die aus den Kohlenstoffwerten berechneten Ergebnisse lagen in allen drei Fällen deutlich über denen, die nach dem eigenen Verfahren ermittelt worden waren; ein Zeichen, daß diese Produkte noch Methylgruppen von difunktionellen Silanen oder vom Endcapping besitzen. Eine unvollständige Spaltung kann ebenfalls nicht völlig ausgeschlossen werden.

Die in Tab.4 gezeigten Werte für die einzelnen Ligandkonzentrationen sind auf die Einwäge bezogen und dürfen nicht ohne weiteres untereinander verglichen werden, da den untersuchten Proben Kieselgele mit jeweils unterschiedlicher Oberfläche zu Grunde liegen dürften.^{61,136}

So ist beispielsweise ein Kieselgel mit einem Substitu-

tutionsgrad von 0,4 $\mu\text{Mol/mg}$ und einer spezifischen Oberfläche von 0,1 m^2/mg durchaus hoch substituiert und dürfte kaum noch freie, aktive Silanolgruppen besitzen.

Tab.4: Substitutionsgrade kommerziell erhältlicher RP-18 Kieselgele
Bestimmungsgrundlage: Quantitative Bestimmung von Octadecan/Octadecanol über GC nach KOH-Schmelze bei 200°C in TEGDE-Suspension. Die angegebenen Daten sind Mittelwerte aus je 10 Messungen.

Probe	Batch-Nr.	Substitutionsgrad [$\mu\text{Mol/mg}$] (aus %C)
HPTLC-Fertigplatten RP-18	Hp/Sch 451	0,66 $\pm$ 0,074
Kieselgel 60 C ₁₈ RP	7R20459	0,58 $\pm$ 0,014
LiChroprep RP-18	8572024	0,59 $\pm$ 0,015
LiChrosorb RP-18	091839*	0,60
LiChrosorb RP-18	VV 2053	0,67 $\pm$ 0,020
LiChrosorb RP-18	VV 1187	0,74 $\pm$ 0,018
LiChrosorb RP-18	VV 1220	0,78 $\pm$ 0,015
LiChrosorb RP-18	VV 1106	0,80 $\pm$ 0,023 (0,98)
LiChrosorb RP-18	VV 1827	0,67 $\pm$ 0,019
LiChrosorb RP-18	VV 2249	0,68 $\pm$ 0,013
ODS SIL-X-5	-	0,48 $\pm$ 0,017
ODS SIL-X-10	-	0,47 $\pm$ 0,012
ODS SIL-X-10	-	0,54 $\pm$ 0,014 (0,64)
Polygosil 60-5 C ₁₈	810606*	0,26
Spherisorb S5 ODS C ₁₈	18/157	0,22 $\pm$ 0,005 (0,31)
VYDAC 201 RP	-	0,03 $\pm$ 0,001

Dieselbe Ligandkonzentration, gemessen für ein Kieselgel-Gerüst mit 0,3 m^2/mg , würde völlig unzureichende Substitution mit starkem Silanolanteil bedeuten.

Es ist daher eigentlich sinnvoll, die gemessenen Werte auf die jeweilige spezifische Oberfläche zu beziehen. Im vorliegenden Fall stößt dies jedoch auf Schwierigkeiten.

* Füllmaterial einer gebrauchten Trennsäule; Einzelbestimmung

Präzise Oberflächenwerte des zur Derivatisierung benutzten Kieselgels werden vom Hersteller in der Regel nicht geliefert. Ist eine solche Information doch gegeben, kann dennoch nicht ohne weiteres auf diese Basis umgerechnet werden, da die Gewichtszunahme des Materials nach der Substitution berücksichtigt werden muß. Unger¹³⁷, Berendsen⁶³, Boksanyi¹³⁸ und andere geben diesbezüglich korrigierte Rechenverfahren an.

Zu berücksichtigen ist ferner, daß während der Derivatisierung eines Kieselgels die Poren verkleinert und die Oberfläche somit erniedrigt wird.^{139,140}

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß ein Vergleich der Meßwerte nur zulässig ist, wenn die spezifische Oberfläche der Proben, z.B. mit dem BET-Verfahren¹¹⁵, vor der Umsetzung mit KOH bestimmt wurde. Solche Messungen konnten jedoch im Rahmen dieser Arbeit noch nicht durchgeführt werden.

Problemlos ist dagegen eine Gegenüberstellung der verschiedenen Batch-Muster eines Herstellers, wie im Beispiel der LiChrosorb* Produkte.

Nachstehend wird auf einige Meßergebnisse eingegangen.

3.2.3.2.1 LiChrosorb RP-18

LiChrosorb RP-18 wurde in verschiedenen Korngrößen und Batch-Variationen untersucht.

Ein Vergleich von zwei 5µ Materialien zeigte erhebliche Unterschiede im Substitutionsgrad.

Batch VV 1187 war im Unterschied zu Batch VV 2053 um 10,5% höher substituiert.

Ähnliche Ergebnisse wurden für die 10µ Materialien gefunden.

Während Batch VV 1827 innerhalb der Fehlergrenzen identisch mit Batch VV 2249 war, zeigte Batch VV 1106 einen um 18,5% höheren Substitutionsgrad.

* LiChrosorb ist eingetragenes Warenzeichen der Fa. E. Merck/Darmstadt.

3.2.3.2.2 Polygosil 60-5 C₁₈, VYDAC 201 RP, Spherisorb S5 ODS C₁₈

Bemerkenswert niedrig waren die Liganddichten für Polygosil*, VYDAC** und Spherisorb*** Materialien.

Während Polygosil als gebrauchtes Säulenmaterial teilweise abgebaut worden sein konnte, hat die VYDAC Probe auf Grund ihrer Partikelgröße (30-44µ) nur eine geringe Oberfläche für die Substitution zur Verfügung.

Für das 5µ Material Spherisorb muß dagegen auch ohne Kenntnis der spezifischen Oberfläche eine unvollständige Umsetzung der Silanolgruppen angenommen werden.

Übereinstimmend damit wurde bereits in mehreren Arbeiten Spherisorb als chromatographisch auffällig erwähnt.^{17-19,25}

3.2.4 Charakterisierung von RP-8 Kieselgelen

Elf verschiedene, kommerzielle RP-8 Kieselgele wurden in TEGDE-Suspension mit KOH bei 200°C umgesetzt. Die Reaktion wurde in zugeschmolzenen Glasampullen durchgeführt, da infolge der Flüchtigkeit des freigesetzten Octans die Ausbeuteverluste bei offener Arbeitsweise zu hoch gewesen wären.

Die Identifizierung der Reaktionsprodukte wurde mit der GC-MS Kopplung und Vergleichssubstanzen erreicht.

Alle Proben wurden zusätzlich mit der Headspacetechnik auf Methanentwicklung untersucht.

Tabelle 5 faßt die Ergebnisse der Untersuchung zusammen. Es konnte gezeigt werden, daß die meisten Proben den n-Octylliganden enthielten; als Reaktionsprodukte der Schmelze wurden dort stets n-Octan und 1-Octanol gebildet (Abb.30).

* Polygosil ist eingetragenes Warenzeichen der Fa. Macherey-Nagel, Düren.

** VYDAC ist eingetragenes Warenzeichen der Fa. The Separations Group, Hesperia, USA.

*** Spherisorb ist eingetragenes Warenzeichen der Fa. Phase Separations, Queensferry, Großbritannien.

Tabelle 5: Kommerziell erhältliche RP-8 Kieselgele und ihre Liganden.

GC-Bestimmung als Alkan/Alkanol, bzw. Silanol/Disiloxan nach KOH-Schmelze bei 200°C in TEGDE-Suspension.

Probe	Batch-Nr.	Partikelgröße [µm]	Strukturhinweis des Herstellers	Produkte der KOH-Schmelze	Struktur des Liganden
HPILC-Fertigplatten	Hp/Sch451	5			
LiChroprep RP-8	8561951	25-40			
LiChroprep RP-8	8597034	25-40			
LiChrosorb RP-8	VV 1137	10			
LiChrosorb RP-8	VV 2159	10			
SIL-X-5 C-8	829081	5		Methan; n-Octan; 1-Octanol	$\equiv \text{Si}-\text{C}_8\text{H}_{17}$
SIL-X-10 C-8	820011	10			
SP 500 RP 8	22050	100-200	Siehe Text		
MOS Hypersil C8	12/772	5	Dimethyl- oxygruppen	Methan; Dimethyl- octylsilanol; Tetramethyldio- xydisiloxan	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ -\text{Si}-\text{C}_8\text{H}_{17} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Kieselgel 60 HPLC C ₈	8120586	5	C ₈	Methan; Benzol; THF; 2,2,4-Trimethylpen- tan; 2,2-Dimethyl- hexan; weitere Iso- mere, ein Octen	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \equiv \text{Si}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \equiv \text{Si}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
GC Durapak n-octane	263	?	$\equiv \text{Si}-\text{O}-\text{C}_8\text{H}_{17}$	1-Octanol	$\equiv \text{Si}-\text{O}-\text{C}_8\text{H}_{17}$

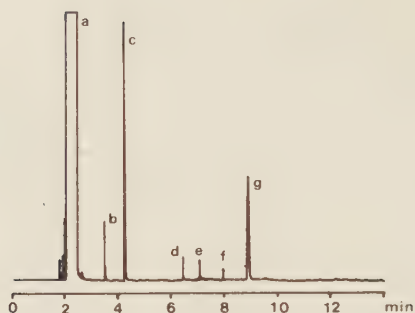


Abb.30: GC der Reaktionsprodukte von RP-8 Kieselgelen nach KOH-Schmelze bei 200°C. Peaks: a=Pentan (Lsgsm.); c=n-Octan; e=1-Octanol; b, d, f=Zersetzungsprodukte von TEGDE; g=TEGDE

Diese Materialien sind di- oder tri-funktionell substituiert.

Alle Proben entwickelten Methan als Reaktionsprodukt der Methylgruppe bei difunktionell substituierten Liganden (58) oder der TMS-Gruppe (61).

Vier Materialien zeigten abweichende Ergebnisse und werden im folgenden besprochen.

3.2.4.1 MOS Hypersil

Für MOS Hypersil* wurden neben Spuren von n-Octan hauptsächlich Dimethyloctylsilanol (65) und 1,1,3,3-Tetramethyl-1,3-dioctyldisiloxan (66) als Reaktionsprodukte gefunden (vergl. Abb.27, S.40).

Die Strukturaufklärung erfolgte über IR, ¹H-NMR und GC-MS Kopplung.

Dieser Befund ist ein eindeutiger Hinweis auf ein monofunktionell derivatisiertes Produkt der Grundstruktur 55 mit Octylliganden.

3.2.4.2 Kieselgel 60 HPLC C₈ (Riedel)

Das Produkt zeigte im GC unbekannte Signale, n-Octan und 1-Octanol wurden nicht gefunden (Abb.31).

* Hypersil ist eingetr. Warenzeichen der Fa. Shandon (Runcorn, England)

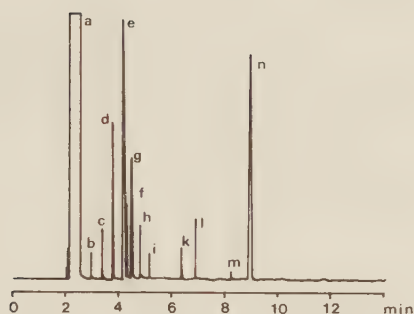


Abb.31: GC der Reaktionsprodukte von Riedel Kieselgel 60 HPLC C₈ nach KOH-Schmelze bei 200°C. Peaks: a=Pentan(Lsgsm.); b=Benzol; c=THF; e=2,2,4-Trimethylpentan; f=2,4,4-Trimethyl-1-penten; g=2,2-Dimethylhexan; h=2,2,3-Trimethylpentan; i=2,3,4-Trimethylpentan; k=Alkanol?; d, l, m=Abbauprodukte von TEGDE; n=TEGDE

Bei einer Strukturaufklärung mit GC-MS Kopplung wurden hauptsächlich 2,2,4-Trimethylpentan und 2,2-Dimethylhexan neben Spuren von 2,4,4-Trimethyl-1-penten, 2,2,3-Trimethylpentan und 2,3,4-Trimethylpentan gefunden. Die Identifikation erfolgte über Referenzspektren.¹⁴¹ Der Nachweis der entsprechenden Alkanole gelang nicht.

Den durch die KOH-Schmelze abgespaltenen Alkanen ist nicht zu entnehmen, über welches Kohlenstoffatom sie zuvor an Silizium gebunden vorlagen. Unter Berücksichtigung der üblichen Si-C Kopplungsreaktionen (vergl. Schema 16, S.32) muß jedoch die Orientierung, wie sie in Tab.5 vorgeschlagen wird, angenommen werden.

Benzol und Tetrahydrofuran (THF) wurden ebenfalls gefunden. Vermutlich waren sie während des Produktionsprozesses adsorbiert worden und lagen nicht gebunden vor.

Mit der Firmenbezeichnung C₈ waren hier offensichtlich Iso-octane gemeint.

Da nach Tab.5 die Substitution mit n-Octan allgemein üblich ist und Käufer des Produkts selbstverständlich von dieser Struktur ausgehen, wäre hier eine entsprechende Kennzeichnung angebracht.

3.2.4.3 SP 500 RP 8

Das Serva Produkt SP 500 RP 8 war erworben worden, da der Hersteller im Verkaufskatalog den Octylliganden als ethergebunden charakterisiert hatte¹⁴² und ein solches Produkt exemplarisch mit untersucht werden sollte.

Eine Etherbindung wird durch KOH in der Regel nicht angegriffen und als Reaktionsprodukt wäre ein Octylether zu erwarten gewesen.

Nach der Umsetzung mit KOH wurden jedoch auch hier n-Octan und 1-Octanol gefunden und charakterisierten das Material als "normales" RP-8 Kieselgel mit Si-C Bindung des Octylliganden.

Übereinstimmend damit konnten nach einer Behandlung der Probe mit BBr_3 zur Etherspaltung weder Bromoctane, noch Octanol nachgewiesen werden.

Die tatsächliche Struktur des Liganden wurde auf Anfrage vom Hersteller bestätigt.

3.2.4.4 GC Durapak* n-Octane

Nach den Herstellerangaben besaß das Material keine Si-C Bindung; der Ligand sollte dagegen über eine Si-O-C Struktur am Kieselgel fixiert sein.

Silylether werden durch eine KOH-Schmelze unter Freisetzung der entsprechenden Alkanole gespalten.¹⁴³

Nach Umsetzung der Probe mit KOH bei 200°C wurde ausschließlich 1-Octanol gefunden (Abb.32).

Der Ligand konnte ebenfalls mit BBr_3 abgespalten werden.¹⁴⁴ Reaktionsprodukte waren 1-Octanol und isomere Bromoctane. Im Gegensatz zu den Ergebnissen bei Octyl-Agarose (8) war der Anteil der Bromoctane gering, 1-Octanol dagegen trat in hoher Konzentration auf.

* Durapak ist eingetragenes Warenzeichen der Fa. Waters (Milford, MA, USA).

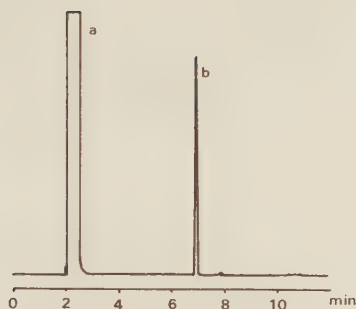
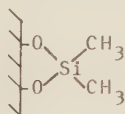


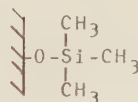
Abb.32: GC der Reaktionsprodukte von GC Durapak n-Octane mit Si-O-C Bindung nach KOH-Schmelze bei 200°C. Peaks:a=Pentan(Lsgsm.);b=1-Octanol.

3.2.5 Charakterisierung von RP-1 Kieselgelen

RP-1 Kieselgele haben hauptsächlich als GC-Trägermaterialien mit desaktivierter Oberfläche große Bedeutung und liegen in der Regel difunktionell derivatisiert (67) vor (Abb.33).



67



68

Abb.33: Strukturen kommerzieller RP-1 Kieselgele

Monofunktionell derivatisierte RP-1 Liganden (68) treten dagegen vor allem als Produkte des Endcappings (61) bei vielen derivatisierten Kieselgelen als Zweitliganden auf.⁵⁶

Die Umsetzung von RP-1 Materialien mit KOH unter Einsatz der Headspace-GC zeigte mit einer Ausnahme für alle Proben Methan (Tab.6).

Die monofunktionell gebundene TMS-Gruppe 68 setzte gegenüber 67 neben Methan zusätzlich Hexamethyldisiloxan frei, das mit

Tabelle 6: Kommerziell erhältliche RP-1 Kieselgele und ihre Liganden.
GC-Bestimmung als Methan/Hexamethyldisiloxan nach KOH-Schmelze bei 200°C.

Probe	Batch-Nr.	Partikelgröße [µm]	Strukturhinweis des Herstellers	Produkte der KOH-Schmelze	Struktur des Liganden
Chromosorb W-AW DMCS	1E 90019	150-180			
Chromosorb W-AW DMCS	231055282	150-180			
HpTLC-Fertigplatten RP-2	Hp/Sch 451	5	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{=Si} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Methan	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{=Si} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
LiChrosorb RP-2	VV 1593	10			
LiChrosorb RP-2	VV 767	10		Kein Signal	?
Alle difunktionell substituierten Kieselgel-Derivate	-	-	-	Methan	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{=Si} \\ \\ \text{Ligand} \end{array}$
Zorbax TMS	-	7	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{-Si-CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Methan; Hexamethyldisiloxan	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{-Si-CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Kieselgel mit TMS-Gruppen (Endcapped)	-	-			

* Kieselgur, kein Kieselgel

konventioneller GC nachgewiesen werden konnte und eine Unterscheidung der beiden Ligandtypen 67 und 68 ermöglichte. Beispielhaft werden im folgenden Ergebnisse für drei unterschiedliche Proben vorgelegt.

3.2.5.1 Chromosorb^{*} W-AW DMCS

Die KOH-Schmelze der Probe wurde direkt im Probenglas für die Headspace-GC durchgeführt. Die kurze Reaktionszeit (15 min.) verhinderte einen zu großen Überdruck im abgeschlossenen Gefäß. Die Anwendung von TEGDE bewährte sich hier nicht, da störende Signale durch partielle Zersetzung des Lösungsmittels auftraten.

Bei der direkten Dampfdruckanalyse wurde Methan gefunden (Abb. 34); die Strukturangabe des Herstellers konnte damit bestätigt werden.

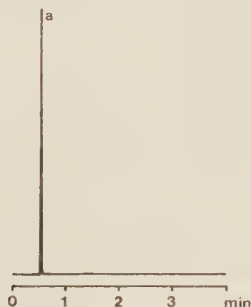


Abb. 34: GC des Reaktionsprodukts von RP-1 Kieselsgelen nach KOH-Schmelze bei 200°C (Headspace-Technik). Peak: a=Methan.

^{*} Chromosorb ist eingetr. Warenzeichen der Johns-Manville Corp. (New York, USA)

3.2.5.2 Zorbax TMS

Zorbax^{*} TMS besitzt nach Herstellerangaben die Struktur (68) und ist ein gutes Modell für den Nachweis von TMS-Gruppen als Zweitliganden (61) an beliebig derivatisierten Kieselgelen.

Nach der KOH-Schmelze des Produkts konnte mit der Headspace-Technik Methan nachgewiesen werden (vergl. Abb.34).

Eine zweite Umsetzung in der normalen, abgeschlossenen Glasampulle zeigte bei der Analyse mit konventioneller GC Hexamethyldisiloxan (Abb.35) und bestätigte damit die monofunktionelle Struktur 68.**

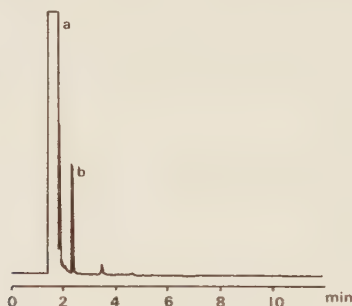


Abb.35: GC des Reaktionsprodukts von Zorbax TMS nach KOH-Schmelze bei 200°C. Peak: a=Pentan (Lsgsm.); b=Hexamethyldisiloxan.

3.2.5.3 LiChrosorb RP-2

LiChrosorb RP-2 besitzt Herstellerangaben zufolge die Struktur 67. Zwei unterschiedliche Proben, Batch VV 1593 und Batch VV 767 standen zur Verfügung.

Während bei VV 1593 nach der KOH-Schmelze Methan nachgewiesen werden konnte, wurde für VV 767 kein Signal erhalten. Die Struktur 67 muß damit für dieses Produkt ausgeschlossen werden.

* Zorbax ist eingetragenes Warenzeichen der Fa. Du Pont, (Wilmington, USA)

** Herrn C. Lüllmann, Universität Bremen, danke ich für die Ausföhrung der Untersuchung.

3.2.6 Charakterisierung von RP-Aryl Kieselgelen

Aromatische RP Kieselgele (RP-Aryl) werden kommerziell zur Trennung von Proben mit π -Elektronensystem angeboten.^{24,123,145} Die vermutliche Grundstruktur der Materialien (69) wird in Abb.36 wiedergegeben.

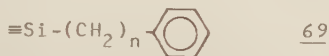


Abb.36: Grundstruktur von RP-Aryl Kieselgelen

Dabei liegt der Aromat entweder direkt ($n=0$), oder über einen Alkylspacer an Kieselgel gebunden vor.

Eine KOH-Schmelze mit TEGDE bei 200°C ließ in allen drei untersuchten Proben aromatische Kohlenwasserstoffe entstehen und bestätigte die Grundstruktur 69 für diese Materialien (Tab.7).

Dabei wurden Beispiele für Ligandstrukturen mit und ohne Spacer gefunden und gezeigt, daß die Abspaltung von Liganden mit direkter Si-Aryl Bindung durch KOH ebenfalls möglich ist.¹⁴⁶

Alle Proben entwickelten zusätzlich Methan.

Nachstehend werden die Ergebnisse für zwei unterschiedliche Materialien beschrieben.

3.2.6.1 Nucleosil C₆H₅

Eine KOH-Schmelze von Nucleosil* C₆H₅ ließ n-Propylbenzol entstehen (Abb.37), sodaß für das Material die Ligandstruktur 69 mit Spacer ($n=3$) angenommen werden konnte.

Der Nachweis, daß der Ligand über den Alkylspacer und nicht über den Aromaten an Kieselgel gebunden ist, wurde durch eine ergänzende Untersuchung der Probe mit BBr₃ geführt.

* Nucleosil ist eingetragenes Warenzeichen der Fa. Macherey-Nagel (Düren).

Tabelle 7: Kommerziell erhältliche aromatische RP-Kieselgele und ihre Liganden.
GC-Bestimmung als Benzol/Alkylbenzol nach KOH-Schmelze bei 200°C in TEGDE-Suspension.

Probe	Batch-Nr.	Partikelgröße [µm]	Strukturhinweis des Herstellers	Produkte der KOH-Schmelze	Struktur des Liganden
Bond Elut PH	-	?	Phenylgruppen	Methan; Benzol	$\equiv \text{Si} - \text{C}_6\text{H}_5$
Nucleosil 7 C ₆ H ₅	1121	7	C ₆ H ₅ -	Methan; Propylbenzol	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2 - \text{C}_6\text{H}_5$
SP 500 Phenyl	02040	100-200	Siehe Text	Methan; Benzol	$\equiv \text{Si} - \text{C}_6\text{H}_5$

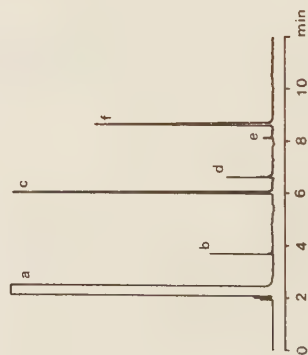


Abb. 37: GC der Reaktionsprodukte von Nucleosil C₆H₅ nach KOH-Schmelze bei 200°C in TEGDE-Suspension. Peaks: a=Pentan (Lsgsm.); c=n-Propylbenzol; b, d, e=Abbauprodukte von TEGDE; f: TEGDE.

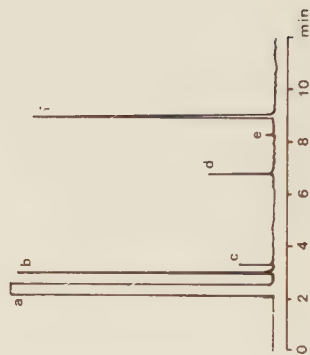


Abb. 38: GC der Reaktionsprodukte von SP 500 Phenyl nach KOH-Schmelze bei 200°C in TEGDE-Suspension. Peaks: a=Pentan (Lsgsm.); b-Benzol; c-e=Abbauprodukte von TEGDE; f-TEGDE

BBr_3 spaltet Si-Aryl, nicht aber Si-Alkyl Bindungen.¹³⁰

Nach einer Umsetzung mit BBr_3 wurde Nucleosil C_6H_5 nicht verändert, eine anschließende KOH-Schmelze produzierte unveränder Propylbenzol.

3.2.6.2 SP 500 Phenyl

Nach einer KOH-Schmelze der Probe wurde Benzol nachgewiesen (Abb.38). Das Material besitzt demzufolge eine Si-Aryl Bindung zum Liganden ohne Spacer ($n=0$).

In Analogie zum RP-8 Derivat desselben Herstellers (vergl. 3.2.4.3, S.52) konnte damit auch hier eine Etherbindung ausgeschlossen werden.

Ein zusätzlicher Test mit BBr_3 auf Etherbindungen fiel ebenfalls negativ aus.

3.2.7 Charakterisierung von SCX Kieselgelen

Während die Struktur der RP Liganden an Kieselgel mit wenigen Ausnahmen vom Hersteller mitgeteilt wird, trifft dies auf Liganden mit funktionellen Gruppen oft nicht zu. Besonders die Struktur von Ionenaustauschern ist in den meisten Fällen nicht bekannt und erschwert oft die Interpretation chromatographischer Ergebnisse.

Bei einer Übertragung der bisher angewandten analytischen Methode auf diese komplizierteren Ligandstrukturen mußte nun zusätzlich auch das chemische Verhalten ihrer funktionellen Gruppen gegenüber der KOH-Schmelze berücksichtigt werden. Auch hier sollten nach Möglichkeit Spaltungsprodukte entstehen, die sich für die GC-Analyse eigneten.

Starke Kationenaustauscher (SCX) werden in der Regel durch Einführung aromatischer Sulfonsäure-Gruppen an polymeren Trägern erhalten.⁴

Eine Literaturdurchsicht ergab für die Matrix Kieselgel Synthesebeschreibungen für SCX Materialien aromatischer^{124,139,147,148} und aliphatischer^{149,150} Natur, sodaß von zwei Grundstrukturen

70 und 71 auszugehen war (Abb.39).



Abb.39: Grundstrukturen der SCX Kieselgele

Während aliphatische Sulfonsäuren (70) bei Behandlung mit KOH in ein Gemisch isomerer Alkene überführt werden,¹⁵¹ mußte bei den aromatischen Vertretern (71) mit Phenol bzw. mit Alkylphenolen gerechnet werden.¹⁵²

Erste Versuche mit SCX Materialien zeigten jedoch weder Alkene, noch Phenole. In einigen Fällen waren allerdings Spuren aromatischer Kohlenwasserstoffe im GC nachzuweisen. Da auf diese Weise keine detaillierten Strukturinformationen gewonnen werden konnten, wurde nach Alternativen gesucht.

Aromatische Sulfonsäuren lassen sich in der Wärme durch wässrige Mineralsäuren zu den entsprechenden Kohlenwasserstoffen desulfonieren.¹⁵³⁻¹⁵⁵

So wurden SCX Kieselgele mit Jodwasserstoffsäure in einer abgeschlossenen Ampulle zwei Stunden bei 200°C erhitzt, getrocknet und erst dann mit der üblichen KOH-Schmelze umgesetzt. Die freigesetzten aromatischen Kohlenwasserstoffe wurden zur Identifizierung der Grundstrukturen benutzt. Tabelle 8 faßt die Ergebnisse zusammen.

Es konnte gezeigt werden, daß die Charakterisierung von SCX Kieselgelen mit KOH nicht direkt, sondern nur nach vorangegangener Desulfonierung möglich ist. Aussagen über Stellung und Anzahl der SO₃H-Gruppen können nicht getroffen werden, jedoch muß aus sterischen und elektronischen Gründen die Monosubstitution in p-Position angenommen werden.

Alle Proben besaßen offensichtlich die aromatische Grundstruktur 71, unterschieden sich aber in der Spacerlänge.

Über die einzelnen Ergebnisse wird im folgenden berichtet.

Tab.8: Kommerziell erhältliche SCX Kieselgele und ihre Liganden.
GC-Bestimmung als Benzol/Alkylbenzole nach Desulfonierung mit H₂O und anschließender KOH-Schmelze in TEGDE-Suspension bei 200°C.

Probe	Batch-Nr.	Partikelgröße [µm]	Strukturhinweis des Herstellers	Desulfonierungsprodukt	Produkte der KOH-Schmelze	Struktur des Liganden
Bond Elut SCX	-	?	Benzolsulfonsäure	-	Ethylbenzol, o-Xylol	$\equiv \text{Si}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_3\text{H}$ $\equiv \text{Si}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_3(\text{CH}_3)-\text{SO}_3\text{H}$
Nucleosil 110 SA	7041	10	-SO ₃ H	Benzol (Spuren)	Methan, n-Propylbenzol	$\equiv \text{Si}-\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_3\text{H}$
HPLC-Sorb VVDAC 401 SA	17	30-44	-	-	Methan, Ethylbenzol, o-Xylol	$\equiv \text{Si}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_3\text{H}$ $\equiv \text{Si}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_3(\text{CH}_3)-\text{SO}_3\text{H}$
Partisil PXS 10/25 SCX	1E3077*	10	$\equiv \text{Si}-(\text{CH}_2)_n-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_3\text{H}$ ³⁴	Benzol	Methan, Benzol, Toluol (alles Spuren)	$\equiv \text{Si}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_3\text{H}$

* Säulennr.

3.2.7.1 Partisil SCX

Partisil^{*} SCX wurde mit HJ desulphoniert und anschließend mit KOH behandelt. Ein GC zeigte jedoch lediglich Spuren von Benzol und Toluol.

Da ein derartig niedriger Substitutionsgrad nicht im Einklang mit den guten chromatographischen Eigenschaften des Materials³⁴ stand, wurde nach Fehlern in der analytischen Technik gesucht.

Es wurde festgestellt, daß beim Desulfonierungsschritt mit HJ auch eventuell vorhandene Si-Aryl Bindungen gespalten werden, sodaß bereits vor der KOH-Schmelze ein Pentan-Extrakt der überstehenden Säure im GC auf Benzol hin untersucht werden muß.

So konnte bereits nach der Desulfonierung von Partisil SCX im GC Benzol nachgewiesen werden (vergl. Abb. 38, S. 58); die anschließende KOH-Schmelze zeigte nach wie vor kaum Signale. Die Substitution von Partisil SCX mit Benzolsulfonsäure geht nicht ohne weiteres aus den Angaben des Herstellers hervor, der eine Struktur 71 ohne Angabe von "n" mitteilte³⁴ und damit den Eindruck eines Spacers erweckte.

3.2.7.2 Nucleosil SA

Nach der Desulfonierung von Nucleosil SA wurden Spuren von Benzol gefunden. Bei der anschließenden KOH-Schmelze entstand Propylbenzol (vergl. Abb. 37, S. 58).

Damit konnte auch für dieses Material eine Struktur 71 (n=3) zu Grunde gelegt werden.

3.2.7.3 Bond Elut SCX, HPLC-Sorb VYDAC 401 SA

Beide Materialien zeigten nach der Desulfonierung keine Signale, sodaß Si-Aryl Bindungen ausgeschlossen werden konnten.

Nach der anschließenden KOH-Schmelze konnten o-Xylol und

* Partisil ist eingetragenes Warenzeichen der Fa. Whatman (Clifton, USA).

Ethylbenzol nachgewiesen werden (Abb.40).

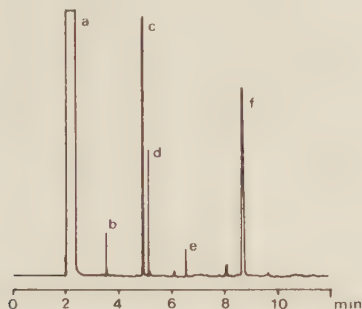


Abb.40: GC der Reaktionsprodukte von Bond Elut SCX oder HPLC-Sorb VYDAC 401 SA nach Desulfonierung mit H₂ und KOH-Schmelze bei 200°C in TEGDE-Suspension. Peaks: a=Pentan(Lsgsm.); c=Ethylbenzol; d=o-Xylol; b,e=Abbauprodukte von TEGDE; f=TEGDE

Für beide Materialien hatten Xylol und Ethylbenzol das gleiche Signalverhältnis, so daß bei der Herstellung der Produkte vermutlich das gleiche Silanierungsreagenz benutzt worden ist.

Während die Entstehung von Ethylbenzol mit der Grundstruktur 71 in Einklang steht ($n=2$), ist das Auftreten von Xylol bisher unerklärlich.

Die Tatsache, daß nach der Desulfonierung kein o-Xylol nachweisbar war, belegt die Bindung als Benzylgruppe, wie in Tabelle 8 vorgeschlagen.

Sowohl bei Bond Elut*, als auch bei VYDAC konnten Ethylbenzol und o-Xylol auch durch direkte KOH-Spaltung ohne vorangegangene Desulfonierung erreicht werden. Dies deutet auf eine unvollständige Sulfonierung der Liganden bei der Herstellung der Produkte hin.

* Bond Elut ist eingetragenes Warenzeichen der Fa. Analytisch International (Harbour City, USA)

3.2.8 Charakterisierung von WCX Kieselgelen

Von den relativ wenig genutzten WCX Kieselgelen stand mit LiChrosorb CXW lediglich ein unverkäufliches Testmuster des Herstellers zur Verfügung. Die Struktur des Liganden war nicht bekannt.

Eine KOH-Schmelze des Materials ohne TEGDE entwickelte Ammoniak und ein GC zeigte 1-Propanol (77) in geringer Konzentration. Nach dem Ansäuern wurden Butansäure (78) und Butansäurepropylester (79) gefunden (Abb.41).

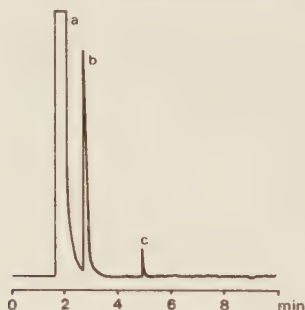


Abb.41: GC der Reaktionsprodukte von LiChrosorb CXW nach KOH-Schmelze bei 200°C und anschließendem Ansäuern. Peaks: a=Diethylether (Lsgsm.); b=Butansäure; c=Butansäurepropylester.

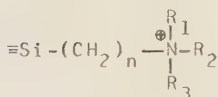
Schema 22 erklärt die gefundenen Reaktionsprodukte hypothetisch mit dem Herstellungsgang von LiChrosorb CXW. Ausgangsprodukt könnte ein 3-Chlorpropyl-substituiertes Kieselgel 72 gewesen sein. Durch Substitution mit CN^- wurde das Kohlenstoffskelett unter Bildung des 3-Cyano-propyl-Derivats (73) verlängert. Als Nebenreaktion wird dabei eine partielle Hydrolyse des nicht umgesetzten Alkylhalogenids (72) zu 74 auftreten und führt nach der KOH-Schmelze zu 1-Propanol (77).

Die Struktur 73 wurde anschließend zur Carbonsäure (75) hydrolysiert. Nicht vollständig hydrolysierte Liganden mit Säureamidstruktur (76) blieben ebenfalls auf dem Gel.

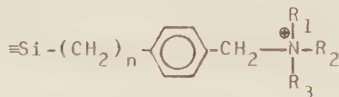
3.2.9 Charakterisierung von SAX Kieselgelen

Stationäre Phasen mit starker Anionenaustausch-Funktion werden in der Chromatographie wohl ohne Ausnahme durch eine quartäre Ammoniumgruppe erhalten!

Für die Matrix Kieselgel war dabei von zwei Grundstrukturen (80,81) auszugehen (Abb.42).^{147,157-159}



80



81

R ≠ H
R C_nH_{2n+1}

Abb.42: Mögliche Grundstrukturen der SAX Kieselgele

In Analogie zu den DEAE-Polysacchariden (vergl. 2.2.6.3, S.24) können die Strukturen (80) und (81) bei der Umsetzung mit KOH in Alken und tertiäres Amin gespalten werden (Hofmann-Eliminierung). Ebenfalls möglich ist die Bildung von Alkanol und Trialkylamin als Produkt der konkurrierenden Substitution.

Fünf verschiedene, kommerzielle SAX Materialien wurden jeweils in einer abgeschlossenen Glasampulle ohne TEGDE bei 200°C mit KOH umgesetzt und die Reaktionsprodukte durch GC-MS Kopplung und Vergleichssubstanzen auf Alkene, Alkanole und Amine hin untersucht.

Tabelle 9 zeigt zusammenfassend die Untersuchungsergebnisse. Es konnte gezeigt werden, daß beide Grundstrukturen, (80) und (81), bei kommerziellen SAX Materialien üblich sind und sich ohne Veränderung der Analysemethoden charakterisieren lassen. Allerdings wurde zur Analyse der tertiären Amine aus Struktur (80) eine veränderte GC-Methode benötigt.

Neben unterschiedlichen Grundstrukturen (80) und (81) unterschieden sich SAX Kieselgele auch in der Länge des Spacers und in der Art der Substituenten am quartären Stickstoff (R₁=R₂=R₃).

Zusätzlich zu den Produkten, die sich auf Eliminierung und Substitution zurückführen lassen, fanden sich bei der Strukturaufklärung auch Verbindungen, die nur über den Herstellungsprozeß erklärt werden können.

Die Ergebnisse für die einzelnen Materialien werden im folgenden diskutiert.

3.2.9.1 Nucleosil SB

Wie das GC (Abb.43) zeigt, fanden sich für Nucleosil SB zahlreiche Reaktionsprodukte nach der KOH-Schmelze.

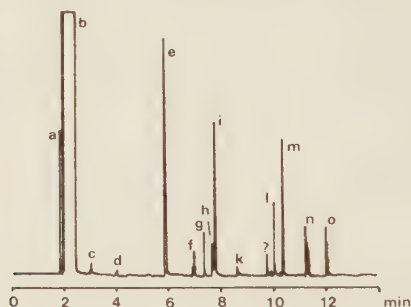
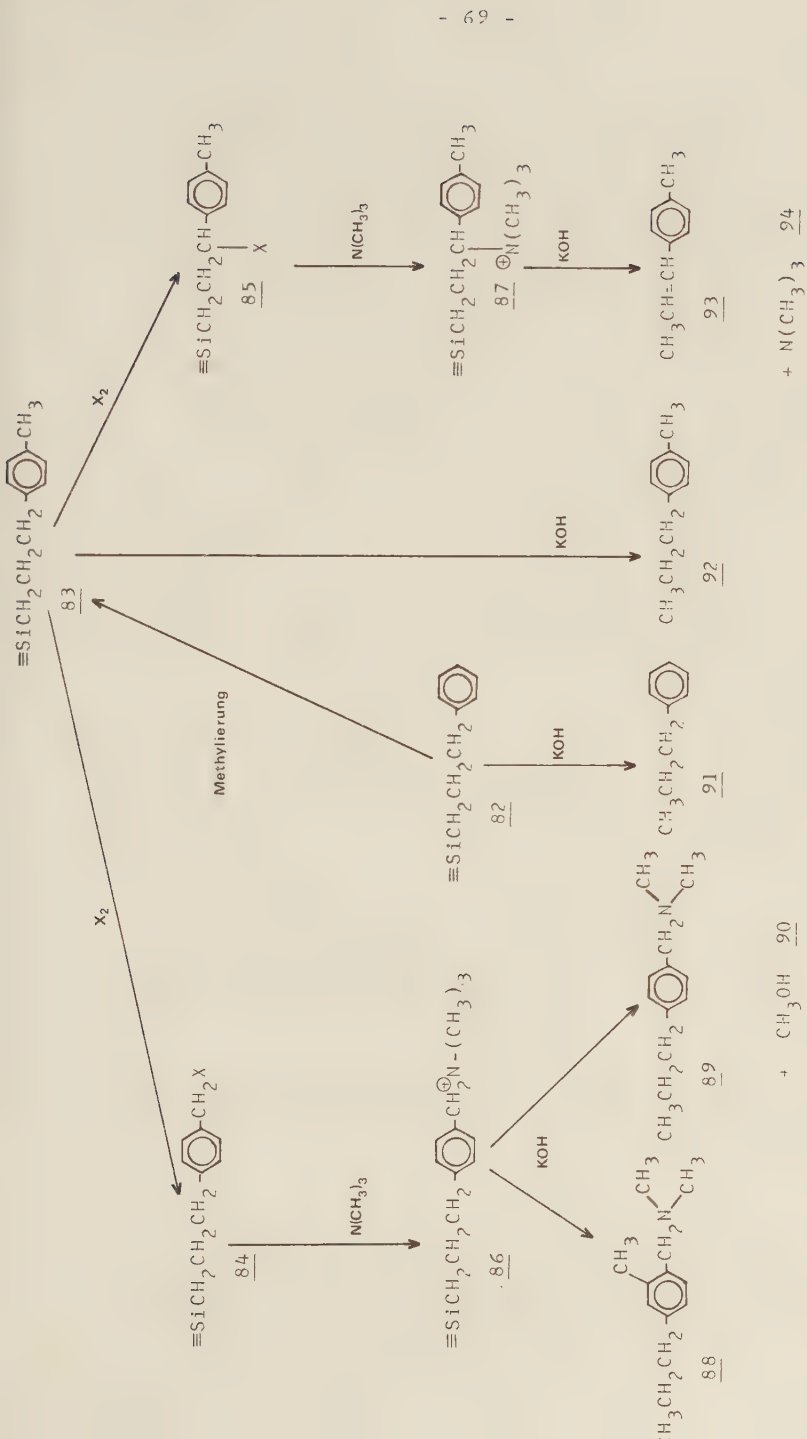


Abb.43: GC der Reaktionsprodukte von Nucleosil SB nach KOH-Schmelze bei 200°C. Peaks: a=Trimethylamin; b=Diethylether (Lsgsm.); c=Benzol; d=Toluol; e=n-Propylbenzol; f=4-Methylpropylbenzol (u. Isomere?); g-i=isomere 4-Methylpropenylbenzole; k=N,N-Dimethyl-4-toluidin; l=4-Methyl-4-N,N-dimethylaminopropylbenzol?; m=N,N-Dimethyl-4-propylbenzylamin; n=N,N-Dimethyl-2-methyl-4-propylbenzylamin; o=4,4'-Dipropyldiphenylmethan

Die Anzahl der Signale weist darauf hin, daß Nucleosil SB nicht nur mit Liganden des Typs 81 substituiert ist, sondern daß auch noch andere Strukturen vorliegen.

Schema 23 erklärt zusammenfassend die Entstehung der beobachteten Signale, wobei der potentielle Syntheseweg zur Einführung der quartären Ammoniumgruppe in den Liganden zugrunde gelegt wurde.



Schema 23: Hypothetischer Produktionsweg von Nucleosil SB, rekonstruiert aus Reaktionsprodukten nach einer KOH-Schmelze bei 200°C

Dieser Syntheseweg wird im folgenden als Hypothese formuliert.

Ausgangsverbindung für Nucleosil SB war danach ein mit n-Propylbenzol substituiertes Kieselgel (82). Die anschließend durchgeführte Methylierung unter Friedel-Crafts Bedingungen führte zur Struktur 83 oder zu den entsprechenden o- und m-Isomeren*.

Die Reaktion verlief jedoch nicht quantitativ, sodaß Liganden der Struktur 82 weiterhin als Substituent neben 83 vorlagen. Bei der Charakterisierung wurde daher während der KOH-Schmelze aus 82 n-Propylbenzol (91) freigesetzt (Signal e aus Abb.43).

Das mit 83 substituierte Kieselgel wurde im Herstellungsprozeß anschließend halogeniert. Auch die Halogenierung verlief nicht quantitativ, sodaß bei der KOH-Schmelze isomere Methylpropylbenzole (92) als Reaktionsprodukte von 83 in Spuren nachgewiesen werden konnten (Signal f aus Abb.43). Die Halogenierung von 83 führte nicht nur zu 84, sondern auch der Spacer wurde in Benzylstellung substituiert (85). Zur Einführung der quartären Ammoniumgruppe wurden die Halogenide (84), (85) mit Trimethylamin umgesetzt.

Demzufolge ist Nucleosil SB mit zwei isomeren, quartären Ammoniumgruppen (86, 87) substituiert, die nebeneinander vorliegen.

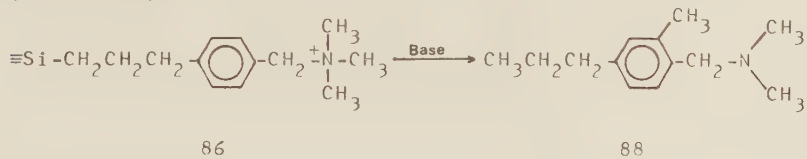
Mit KOH reagieren diese beiden Liganden unterschiedlich. Während 87 gemäß der Hofmann-Eliminierung zum Alken 93 (Signal g-i aus Abb.43) und Trimethylamin (94) zerfällt, wird 86 nach dem Substitutionsprinzip zu 89 (Signal m aus Abb.43) und Methanol** 90 abgebaut.

Rückstände der Strukturen 84 und 85 konnten erwartungsgemäß nicht gefunden werden, obwohl auch diese Reaktion nicht vollständig abgelaufen sein wird.¹⁶⁰

* o,m,p-Isomere sind im MS nicht unterscheidbar, im folgenden wird p-Substitution angenommen.

** Methanol konnte unter GC-MS Bedingungen nicht vom Lösungsmittelsignal getrennt und nachgewiesen werden.

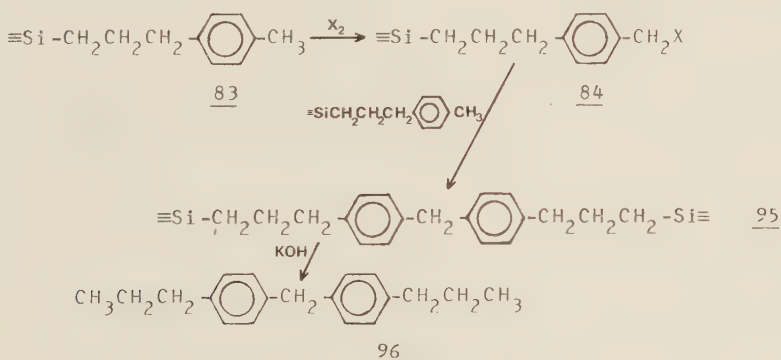
Das Halogenid 84 würde durch KOH zum entsprechenden Benzylalkohol substituiert werden. Dieser ist jedoch gegenüber KOH nicht stabil¹⁶¹ und kann im GC nach der KOH-Schmelze nicht sicher nachgewiesen werden. Das trifft prinzipiell auch für das Isomere 85 zu, jedoch wird hier die Eliminierung zum resonanzstabilisierten Alken (93) dominieren. N,N-Dimethyl-2-methyl-4-propylbenzylamin (88) ist vermutlich als Ringalkylierungsprodukt bei der Zersetzung der quartären Ammoniumgruppe (86) entstanden¹⁶² (Sommelet-Hauser Umlagerung) (Schema 24).



Schema 24: Sommelet-Hauser Umlagerung quartärer Ammoniumverbindungen

Denkbar ist jedoch ebenfalls eine Mehrfachalkylierung von 83 beim Methylierungsschritt.

4,4'-Dipropyldiphenylmethan (96) (Signal o aus Abb.43) kann bei der Halogenierung von 83 als Nebenprodukt (95) auftreten¹⁶³ (Schema 25).



Schema 25: Reaktionsprodukte einer Halogenierung an einem mit Propylbenzol substituierten Kieselgel (82)

3.2.9.2 HPLC-Sorb VYDAC 301 SB und VYDAC Anion Exchange

Nach der Umsetzung mit KOH fanden sich für beide Materialien im GC die gleichen Reaktionsprodukte (Abb.44).

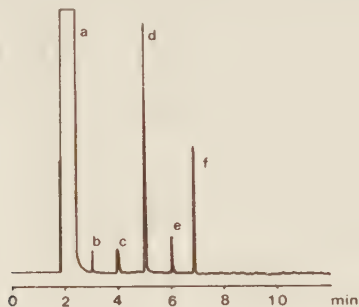


Abb.44: GC der Reaktionsprodukte von VYDAC SB Kieselgelen nach KOH-Schmelze bei 200°C. Peaks: a=Diethylether (Lsgsm.); b=Benzol; c=Triethylamin; d=Ethylbenzol; e=4-Methylstyrol; f=N,N-Diethyl-4-ethylbenzylamin

Der Nachweis von N,N-Diethyl-4-ethylbenzylamin (103) bewies als tertiäres Amin aus der Hofmann-Eliminierung eine Grundstruktur (81) mit $n=2$ für beide Proben. Das zugehörige Alken ist demnach Ethen (104). Ethen konnte jedoch auf Grund seiner Flüchtigkeit nicht sicher nachgewiesen werden.

4-Methylstyrol (106) und Triethylamin (94) sind Eliminierungsprodukte einer weiteren isomeren Ammoniumgruppe (102) und geben zusammen mit Ethylbenzol (105) Hinweise auf das Herstellungsverfahren.

Schema 26 faßt die analytischen Ergebnisse zusammen und entwirft den Herstellungsgang für VYDAC SB Produkte als Hypothese.

Ausgangsprodukt war ein mit Ethylbenzol substituiertes Kieselgel (97). Durch Friedel-Crafts-Methylierung entstand die Ligandstruktur (98). Eine anschließende Halogenierung substituierte sowohl in der neueingeführten Methylgruppe (99), als auch im Ethylspacer (100). Die Umsetzung mit Triethylamin führte damit zu zwei isomeren Ammoniumverbindungen (101) und (102).



Schema 26: Hypothetischer Herstellungsprozeß für VYDAC SB Materialien, rekonstruiert nach Reaktionsprodukten einer KOH-Schmelze bei 200°C.

Durch unvollständige Methylierung der Ausgangsstruktur (97) wird bei der Umsetzung mit KOH neben den Eliminierungsprodukten 94, 103 und 106 auch Ethylbenzol (105) gefunden.

3.2.9.3 Partisil SAX

Partisil SAX konnte nicht strukturell aufgeklärt werden. Nach der KOH-Schmelze wurden lediglich Spuren von Trimethylamin (94) und Methan festgestellt. Alkene, Alkanole oder andere Reaktionsprodukte konnten nicht nachgewiesen werden.

Damit sind die Grundstrukturen (80) und (81) für dieses Material fraglich.

3.2.9.4 Bond Elut SAX

Nach der KOH-Schmelze von Bond Elut SAX wurden Trimethylamin (94) und Propen (111) als Eliminierungsprodukte gefunden (Abb.45).

Damit galt für das Material die Grundstruktur 80 .

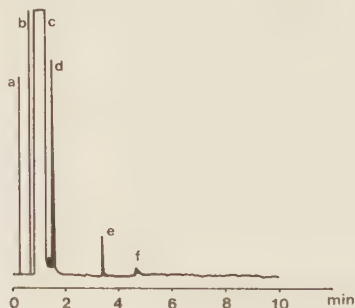
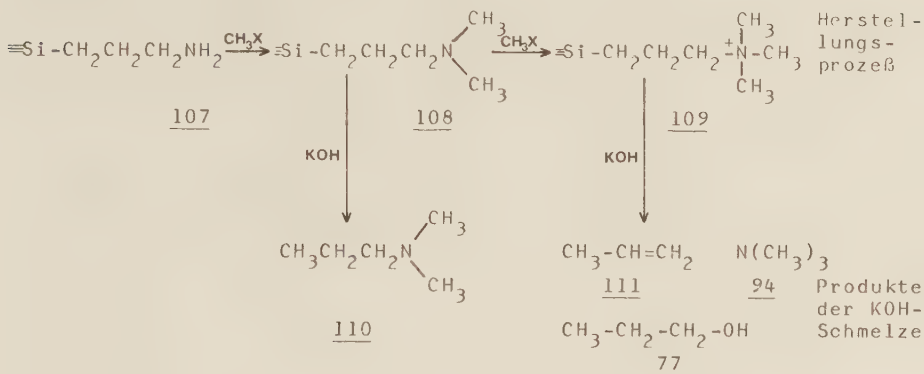


Abb.45: GC der Reaktionsprodukte von Bond Elut SAX nach KOH-Schmelze bei 200°C. Peaks: a=Propen; b=Trimethylamin; c=Diethylether (Lsgsm.); d=N,N-Dimethylpropylamin; e=1-Propanol; f=N-Methyl-dipropylamin

Zusätzlich wurden N,N-Dimethylpropylamin (110), sowie Spuren von 1-Propanol (77) und N-Methyldipropylamin * nachgewiesen.

* Die Herkunft des N-Methyldipropylamins wird im folgenden Kapitel 3.2.10 am Beispiel LiChrosorb AXW beschrieben.

Während das Auftreten von Propanol (77) mit dem Hinweis auf die S_N Konkurrenz-Reaktion erklärt werden kann, deutet die Anwesenheit des Dimethylpropylamins (110) auf unvollständige Methylierung (108) während des Reaktionsprozesses hin (Schema 27).



Schema 27: Hypothetischer Herstellungsprozeß von Bond Elut SAX rekonstruiert auf Grund der Reaktionsprodukte einer KOH-Schmelze.

3.2.10 Charakterisierung von WAX Kieselgelen

Über den Einsatz von WAX Kieselgelen in der HPLC gibt es vergleichsweise wenig Berichte.¹⁶⁴

Materialien mit freier Aminogruppe (NH_2) werden jedoch zur Kopplung mit Affinitätsliganden oder anderen Substituenten genutzt.^{8,9}

Auf Grund mehr oder weniger detaillierter Herstellerangaben mußte bei der Charakterisierung von WAX Kieselgelen von der Grundstruktur 112 ausgegangen werden (Abb.46).

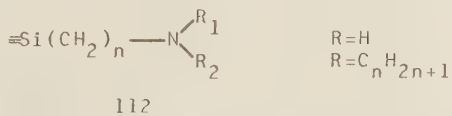


Abb.46: Grundstruktur kommerzieller WAX Kieselgele

Bei der KOH-Schmelze werden Liganden von 112 als Alkylamine freigesetzt.

Da primäre, sekundäre und tertiäre Amine unter diesen Bedingungen stabil sind¹⁶⁵, brauchte keine Vor- bzw. Nachbehandlung der Proben vorgenommen werden.

Jedoch bereitete die GC-Analyse von Alkylaminen auf Grund von Adsorptionseffekten und starkem Tailing große Schwierigkeiten. Verschiedene GC-Säulen und unterschiedliche Trägermaterialien wurden erfolglos eingesetzt.

Sehr gute Trenneigenschaften zeigte jedoch eine selbstbelegte (10% Octadecylamin), gepackte Glassäule, auf der auch polare, primäre Amine ohne Tailing gemessen werden konnten. Die maximale Arbeitstemperatur blieb allerdings auf 100°C beschränkt.

Zehn kommerziell erhältliche WAX Kieselgele wurden ohne TEGDE mit KOH bei 200°C umgesetzt. Die Reaktion wurde auf Grund der Flüchtigkeit der entstehenden Amine in verschlossenen Glasampullen durchgeführt.

Tabelle 10 zeigt zusammenfassend die Ergebnisse.

Alle Materialien hatten die Grundstruktur 112 mit Propylspacer ($n=3$). Es wurden primäre, tertiäre und ein sekundäres Amin gefunden.

Nachfolgend wird auf die einzelnen Resultate eingegangen.

3.2.10.1 HPLC-Sorb SIL 60-D 10 $N(CH_3)_2$, Nucleosil 10 $N(CH_3)_2$, LiChrosorb AXW

HPLC-Sorb, Nucleosil und LiChrosorb zeigten die gleichen Reaktionsprodukte nach der KOH-Schmelze.

Hauptsignal war in allen Fällen N,N-Dimethylpropylamin (110).

Daneben wurden Propen (111) und Trimethylamin (94) als Hinweis auf quartäre Ammoniumgruppen (109) in Spuren gefunden.

Wie bei Bond Elut SAX (vergl. 3.2.9.4, S. 74) wurde auch hier Propanol (77) und N-Methyldipropylamin (116) gefunden.

Bei LiChrosorb AXW waren diese beiden Signale besonders ausgeprägt (Abb. 47), sodaß sich die weiteren Ausführungen nur auf dieses Produkt beschränken.

Probe	Batch-Nr.	Partikelgröße [µm]	Strukturhinweis des Herstellers	Produkte der KOH-Schmelze	Struktur des Liganden
Bond Elut PSA	-	?	Primäre, sekundäre Amine	Propylamin; N-Propylethylendiamin; Dipropylamin; unid. Amin	$\equiv \text{Si}-(\text{CH}_2)_3 \text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ $\equiv \text{Si}-(\text{CH}_2)_3 \text{NH}(\text{CH}_2)_3 \text{Si} \equiv$
HPLC-Sorb SIL 60-D 10 N(CH ₃) ₂	-	10	-N(CH ₃) ₂		$\equiv \text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3$ $\equiv \text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ $\equiv \text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{X/OH}$ $\equiv \text{Si}-(\text{CH}_2)_3 \text{N}(\text{CH}_2)_3 \text{CH}_3$ -Si≡
LiChrosorb AXW*	KF51083	10	-	Methan (nicht bei LiChros.); Propen (Spuren); Trimethylamin (Spuren); Dimethylpropylamin; Propanol; N-Methyldipropylamin	
Nucleosil 10 N(CH ₃) ₂	7021	10	-N(CH ₃) ₂		
Alkylamine CPG 550	D07-10	177-840	Alkylamin	Methan; Propylamin	
HPLC-Sorb SIL 60-D 10 NH ₂	6061	10	-NH ₂	Propylamin	
APS Hypersil	-	5	$\equiv \text{Si}-(\text{CH}_2)_3 \text{NH}_2$	Methan; Propylamin	
LiChrosorb NH ₂	VV 1818	10	$\equiv \text{Si}-(\text{CH}_2)_3 \text{NH}_2$	Methan (Spuren); Propylamin; unid. Signal	$\equiv \text{Si}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$
Nucleosil 10 NH ₂	7041	10	-NH ₂	Methan (Spuren); Propylamin	
SIL-X-10 NH ₂	822041	10	-NH ₂	Propylamin	

*Unverkäufliches Forschungsmuster

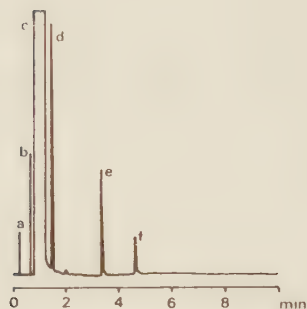


Abb.47: GC der Reaktionsprodukte von LiChrosorb AXW nach KOH-Schmelze bei 200°C. Peaks: a=Propen; b=Trimethylamin; c=Diethylether (Lsgsm.); d=N,N-Dimethyl-n-propylamin; e=1-Propanol; f=N-Methyldi-n-propylamin

Schema 28 erklärt hypothetisch die Entstehung der beobachteten Reaktionsprodukte mit dem potentiellen Herstellungsprozeß.

Ausgangsprodukt war demnach 3-Aminopropyl Kieselgel (107). Die exotherme Methylierung führte nicht nur zum tertiären Amin (108), sondern ließ zum Teil auch quartäre Ammoniumgruppen (109) entstehen,

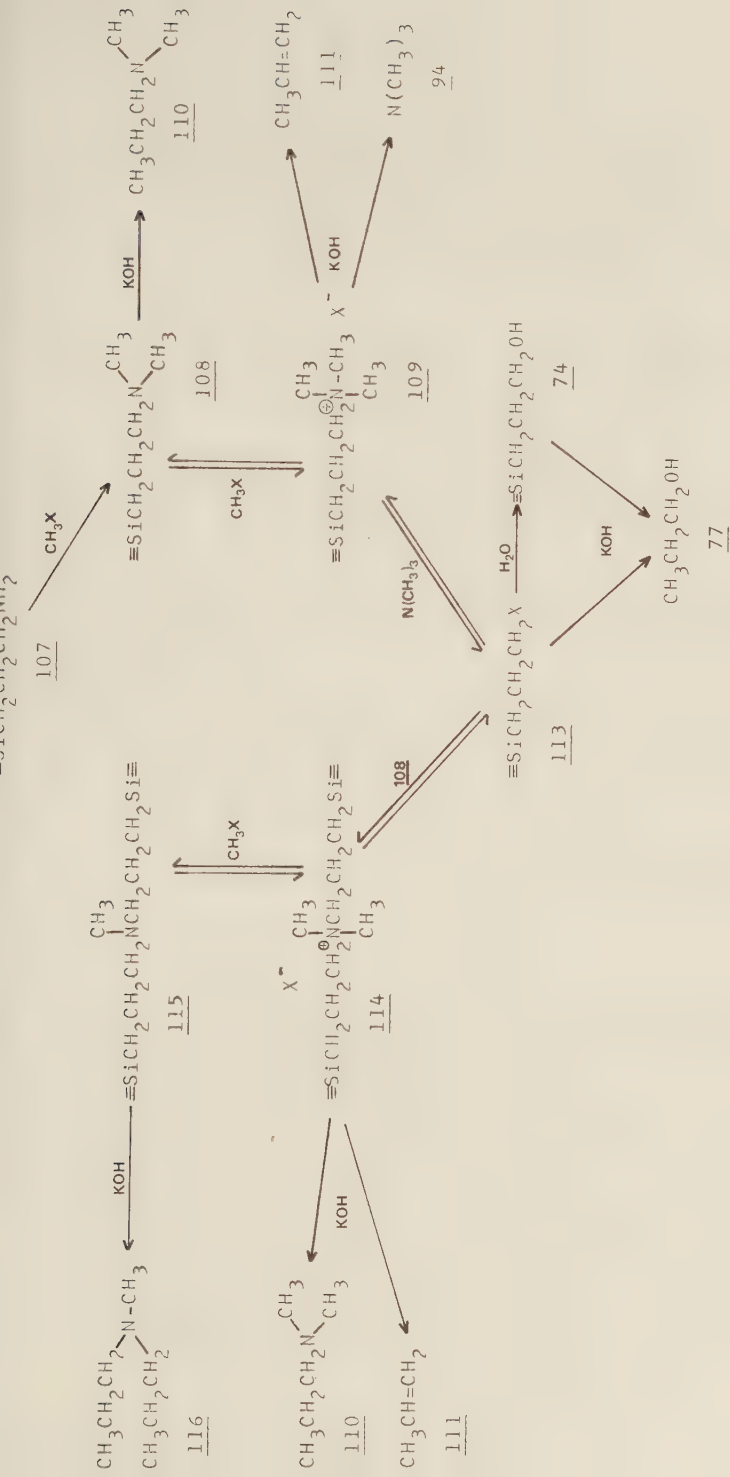
Bei höheren Temperaturen kann dabei durch Umalkylierung das Alkylhalogenid 113 entstehen^{106,107} und den Hauptliganden 108 unter Bildung des Dimethyldipropylammoniumions 114 mit zwei Matrixverknüpfungen alkylieren.

Eine weitere Disproportionierung führt schließlich zur Struktur 115, die bei einer KOH-Schmelze das tertiäre Amin 116 freisetzt.

Während die Präsenz des Liganden 114 auf Grund seiner KOH-Spaltungsprodukte nicht von anderen Ligandtypen unterschieden werden kann, lassen sich sowohl 109, als auch 113 durch die Produkte der KOH-Schmelze belegen (111, 94, 77).

Ein Teil der Liganden 113 wird allerdings zu 74 hydrolysiert werden.

Eine Bestätigung für die Anwesenheit von Alkylhalogenid-Liganden 113 wurde auch durch Kochen von LiChrosorb AXW mit Diethylamin erhalten.



Schema 28: Umalkylierungen im potentiellen Syntheseweg von LiChrosorb AXW, rekonstruiert auf Grund von Reaktionsprodukten einer KOH-Schmelze.

Nach der anschließenden KOH-Schmelze konnte zusätzlich zu den bekannten Signalen N,N-Diethylpropylamin nachgewiesen werden. Der Propanol-Peak war entsprechend verkleinert. Zusammengefaßt fanden sich folgende Ligandstrukturen an der Oberfläche von LiChrosorb AXW (Abb.48).

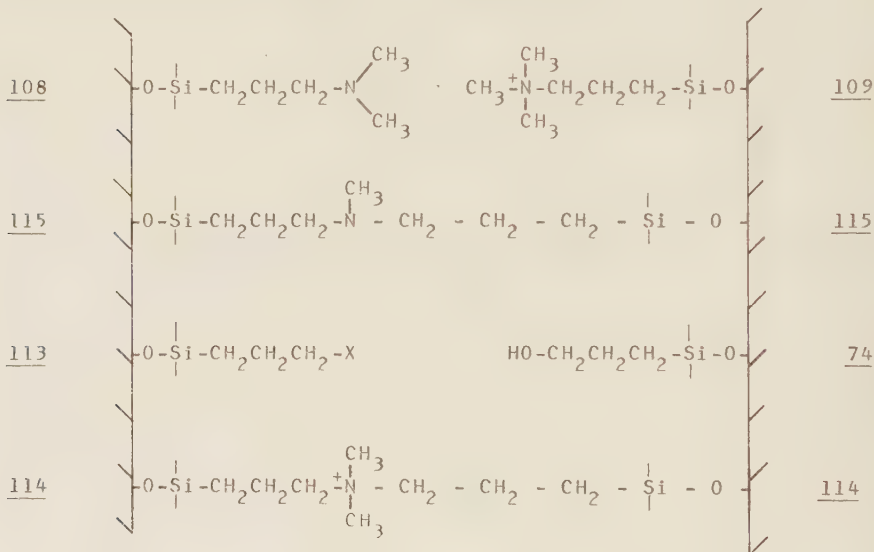


Abb.48: LiChrosorb AXW, Struktur der Liganden

3.2.10.2 Bond Elut PSA

Bond Elut PSA wird vom Hersteller mit dem Vermerk "Primäre, sekundäre Amine" vertrieben. Ein GC nach der KOH-Schmelze zeigte neben Spuren von n-Propylamin (119) und Di-n-propylamin (120) hauptsächlich zwei Signale hoher Retentionszeit (Abb.49), die zunächst nicht zugeordnet werden konnten. Eine GC-MS untersuchung zeigte für das Hauptsignal die Masse m/e 102. Ein Referenzspektrum war nicht verfügbar. Da Amine stets ungerade Massenzahlen besitzen, mußte diese Verbindung als Amin mindestens 2 oder aber 4 Stickstoffatome besitzen. Mit Hilfe des Identifizierungsschemas für unbekannte Amine nach Mc Lafferty¹⁶⁶ wurde schließlich die Struktur als N-n-Propylethylendiamin (121) erkannt.

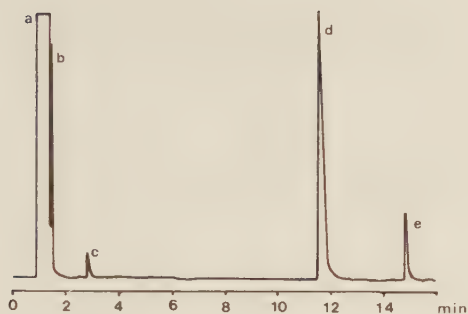
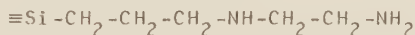


Abb.49: GC der Reaktionsprodukte von Bond Elut PSA nach KOH-Schmelze bei 200°C. Peaks: a=Diethylether (Lsgsm.); b=n-Propylamin; c=Di-n-propylamin; d=N-n-Propylethylendiamin; e=?

Ein Vergleich mit der käuflichen Referenz bestätigte die Struktur. Signal e aus Abb.49 konnte dagegen nicht identifiziert werden.

Damit kann dem Material in der Hauptsache die Struktur 117 zugeordnet werden (Abb.50).

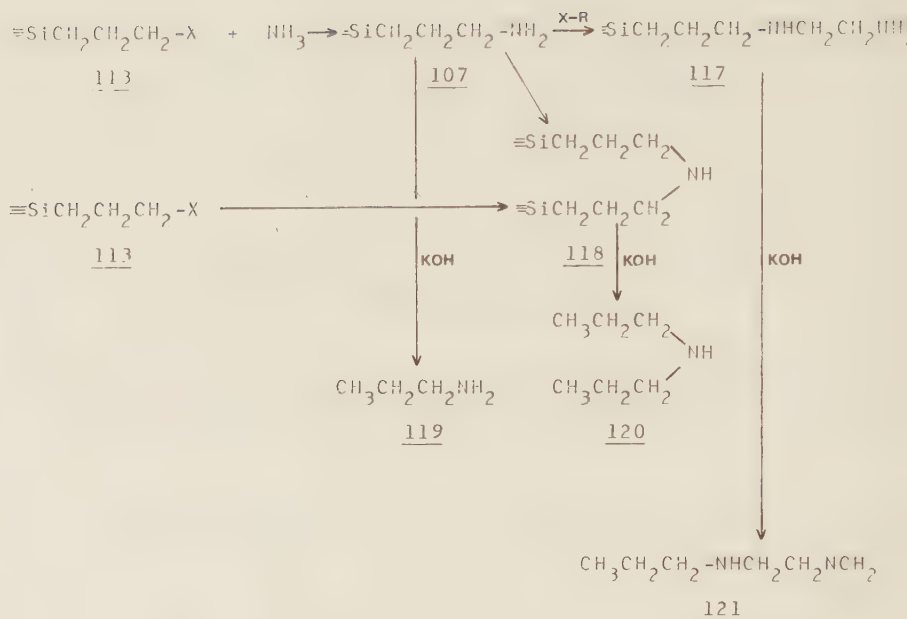


117

Abb.50: Struktur von Bond Elut PSA

Propylamin (119) und Dipropylamin (120) sind vermutlich Rückstände durch unvollständige Umsetzung aus der Produktion des Materials (Schema 29).

Ihre Entstehung wird im folgenden hypothetisch erklärt. Ausgangsprodukt, ist ein Kieselgel mit Alkylhalogenid-Liganden (113). Durch Umsetzung mit Ammoniak entsteht die Struktur 107, die zum Teil von benachbarten, noch nicht umgesetzten Alkylhalogenid-Liganden 113 unter Quervernetzung alkyliert werden kann (118). Eine Umsetzung von 107, z.B. mit 2-Chlorethylammoniumchlorid führt zur Struktur 117 des Hauptliganden.



Schema 29: Potentieller Syntheseweg für Bond Elut PSA, rekonstruiert auf Grund der Reaktionsprodukte einer KOH-Schmelze

3.2.10.3 Derivate mit NH_2 -Gruppen

Alle sechs Derivate, die nach Herstellerangaben primäre Aminogruppen (NH_2) enthielten, entwickelten während der KOH-Schmelze n-Propylamin (119) (Abb.52).

Dies Ergebnis ermöglichte eine klare Strukturbestimmung (Abb.51).

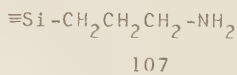


Abb.51: Struktur von Kieselgel-Derivaten mit NH_2 -Liganden

LiChrosorb NH_2 enthielt zusätzlich eine Verunreinigung, deren Struktur jedoch nicht aufgeklärt wurde.

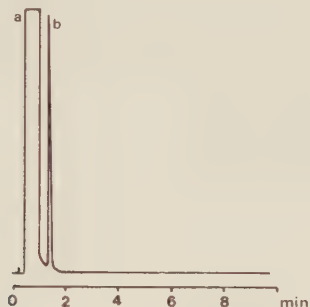


Abb.52: GC der Reaktionsprodukte von Kieselgel-Derivaten mit NH_2 -Gruppen nach KOH-Schmelze bei 200°C . Peaks: a=Diethylether (lsgsm.); b=Propylamin

3.2.11 Charakterisierung von NO_2 Kieselgelen

Die Bedeutung von NO_2 Kieselgelen ist noch vergleichsweise gering; Materialien dieses Ligandtyps zeigen gewisse Selektivität für Proben mit olefinischem oder aromatischem Charakter.^{20,59}

Die Struktur der Liganden war nicht bekannt. Auf Grund der orange-gelben Tönung der Materialien wurde jedoch die Anwesenheit einer aromatischen Nitrogruppe vermutet.

Die methanolische Suspension einer NO_2 Probe zeigte im UV zwei Adsorptionsmaxima mit $\lambda = 305\text{nm}$ und 280nm .

Mononitro-Aromaten reagieren mit Basen im Sinne einer Redoxreaktion. Dinitro-Verbindungen bilden salzartige Komplexe nach Meisenheimer.¹⁶⁷⁻¹⁶⁹

Die so entstehenden Verbindungen sind in der Regel für die direkte GC-Analyse nicht geeignet, und tatsächlich lieferten die tiefrot gefärbten Reaktionsprodukte eines NO_2 Materials nach einer KOH-Schmelze keinerlei GC Signale.

Die Proben wurden nun verschiedenen Reduktionsverfahren unterzogen, von denen sich die Methode mit Raney-Nickel und

Hydrazin besonders bewährte. Die Materialien wurden während des Reduktionsprozesses zunehmend heller und zeigten auch bei der anschließenden Schmelze nur geringe Rotfärbung. Zur Verbesserung des chromatographischen Verhaltens während der GC-Analyse wurden die zu erwartenden Aniline als Trifluoracetyl-Derivate (TFA) gemessen.

Die Ergebnisse zeigten (Tab.11/Abb.53), daß alle drei Materialien 4-Nitrobenzylgruppen (122) enthielten, die zu 4-Toluidin-Liganden reduziert worden waren. Das entsprechende m-Isomere wurde lediglich in Spuren, das o-Produkt überhaupt nicht gefunden.

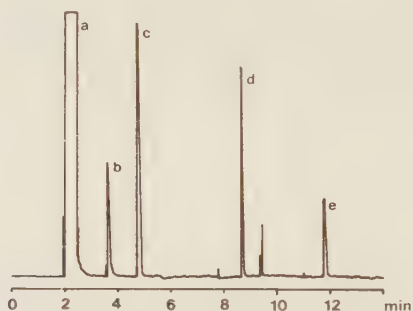


Abb.53: GC der Reaktionsprodukte von NO_2 -Kieselgelen nach Reduktion mit Raney-Ni/Hydrazin und anschließender KOH-Schmelze bei 200°C . Peaks: a=Diethylether (Lsgsm.); b, c=TFA-Signale; d=4-Toluidin (TFA-Derivat); e=?

Damit war die Struktur des Liganden festgelegt (Abb.54).

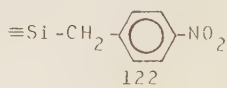


Abb.54: Struktur von NO_2 Kieselgelen

Auffällig am Ergebnis für Nucleosil NO_2 war, daß der Hersteller nicht das sonst benutzte Propylbenzol-Gerüst, sondern Benzylgruppen eingesetzt hatte. Vermutlich ist die Si-Benzyl-Bindung Nitrierungsbedingungen gegenüber besonders stabil.¹¹⁵ Ebenfalls auffallend war die starke Färbung

Tab.11: Kommerziell erhältliche NO₂-Kieselgele und ihre Liganden.
GC-Bestimmung als Aniline(IFA-Derivate) nach Reduktion mit Raney-Ni/Hydrazin
und anschließender KOH-Schmelze bei 200°C.

Probe	Batch-Nr.	Partikelgröße [µm]	Strukturhinweis des Herstellers	Produkte der KOH-Schmelze	Struktur des Liganden
HPLC-Sorb SIL 60-D 10 NO ₂	6061	10	NO ₂	4-Toluidin	$\equiv \text{Si}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NO}_2$
Ncleosil 10 NO ₂	7041	10	NO ₂	Methan, 4-Toluidin	
SIL-X-10 NO ₂	821051	10	NO ₂	4-Toluidin	

Tab.12: Kommerziell erhältliche CN-Kieselgele und ihre Liganden.
GC-Bestimmung als Carbonsäure nach KOH-Schmelze bei 200°C und anschließender Ansäuerung

Probe	Batch-Nr.	Partikelgröße [µm]	Strukturhinweis des Herstellers	Produkte der KOH-Schmelze	Struktur des Liganden
HPLC-Sorb SIL 60-D 10 CN	6121	10	CN	n-Butansäure	$\equiv \text{Si}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{CN}$
CPS Hypersil	12/774	5	Cyanopropyl-Gruppen	Methan;n-Butansäure	
LiChrosorb CN	VV 2107	10		n-Butansäure	
SIL-X-10 CN	821101	10	CN	n-Butansäure	

der NO_2 Materialien gegenüber der blaßgelben Tönung von freiem 4-Nitrotoluol. Die ca. 2,8 Å weit reichenden d-Orbitale des Siliziums beeinflussen offensichtlich den Chromophor des Nitroaromaten (Entfernung Si/Aromat ~ 3 Å) unter bathochromem Effekt.¹⁷⁰

3.2.12 Charakterisierung von CN Kieselgelen

CN Kieselgele lassen sich sowohl im Reversed Phase-, wie auch im Normal-Phase -Betrieb einsetzen.^{20,171}

Wie schon bei den WCX Kieselgelen gezeigt, erhält man als Endprodukte der KOH-Schmelze von Nitrilen die entsprechenden Kaliumcarboxylate.¹⁵⁶

Vier unterschiedliche CN Kieselgele wurden mit KOH ohne TEGDE umgesetzt. Nach dem Erkalten der Schmelze wurde angesäuert, um die freie Carbonsäure zur GC-Analyse freizusetzen. Tabelle 12 zeigt die Ergebnisse.

In allen Fällen wurde n-Butansäure gefunden (Abb.55).

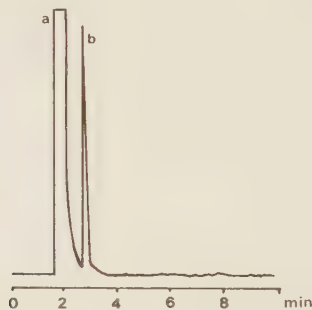


Abb.55: GC der Reaktionsprodukte von CN Kieselgelen nach KOH-Schmelze bei 200°C und anschließender Ansäuerung. Peaks: a=Diethylether (Lsgsm.); b=n-Butansäure

Dieses Ergebnis ist auf eine Ligandstruktur 123 nach Abb.56 zurückzuführen.



Abb.56: Struktur der CN Kieselgele

3.2.13 Charakterisierung von Diol Kieselgelen

Diol-substituierte Kieselgele (125) werden unter anderem zur Trennung von Proteinen genutzt¹⁷², ihre synthetische Vorstufe mit Oxiranfunktion (124) dient dagegen der Ankopplung von Liganden für die Affinitätschromatographie.⁵⁻⁷ Für dieses Material wird die Struktur 124 angegeben (Abb.57).

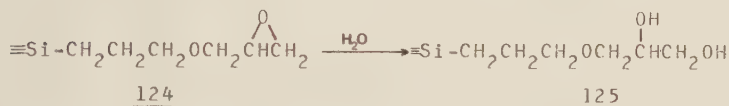


Abb.57: Struktur der Epoxypropyl und Diol Kieselgele

Während der KOH-Schmelze wird das Oxiran 124 zunächst zum Diol 125 hydrolysiert werden, die Etherbindung dagegen stabil bleiben.

Diole reagieren jedoch unter diesen Reaktionsbedingungen unter anderem zu Oxalaten, Karbonaten¹⁷³, die im GC nicht nachweisbar sind.

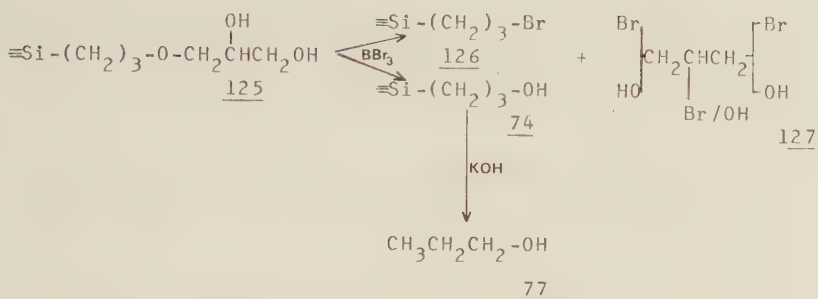
In Übereinstimmung damit wurden nach einer KOH-Schmelze von Diol Kieselgelen keine Signale im GC gefunden.

Daher wurde als Vorbehandlung die Etherbindung von 125 mit BBr_3 gespalten und versucht, unterschiedlich bromierte Glycerin-Derivate (127) nachzuweisen (vergl. 2.2.2.1, S.11) (Schema 30). Das verbleibende Kieselgel (74, 126) wurde mit KOH umgesetzt und auf 1-Propanol (77) hin analysiert. Die analytischen Ergebnisse für drei unterschiedliche Diol Kieselgele zeigt Tabelle 13.

Bei allen Proben wurde 1-Propanol (77) nach der KOH-Schmelze gefunden (Abb.58).

Die potentiellen Reaktionsprodukte 127 konnten jedoch nur in Spuren nachgewiesen werden und waren zur Charakterisierung nicht hilfreich.

Materialien mit Epoxypropylgruppen (124) zeigten die gleichen Reaktionsprodukte, wie die Diol Proben (125), sodaß keine Unterscheidung zwischen beiden Typen getroffen werden konnten.



Schema 30: Vorbehandlung von Diol Kieselgelen mit BBr_3 und anschließende KOH -Schmelze

3.2.14 Charakterisierung von Amid Kieselgelen

Liganden mit Amidgruppen (128) sind in der Regel nicht kommerziell erhältlich, sondern können beispielsweise aus WAX Derivaten mit freien NH_2 -Gruppen durch Umsetzung mit Carbonsäure-Derivaten synthetisiert werden.⁹

Das einzig zugängliche Material wurde aus APS Hypersil durch Reaktion mit Octansäurechlorid hergestellt* und sollte zur Trennung von DNA-Bestandteilen eingesetzt werden (Abb.60).

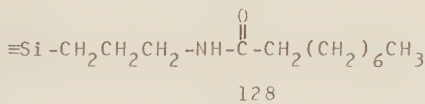


Abb.60: Struktur eines Amid Kieselgels

Amide zerfallen in der KOH -Schmelze zu Aminen und Kaliumcarboxylaten.¹⁶⁵

Bei der Umsetzung des Materials mit KOH in abgeschlossener Ampulle wurde n-Propylamin (119) (vergl. Abb.52) gefunden und nach dem Ansäuern konnte auf einer Kapillarsäule n-Octansäure nachgewiesen werden (Abb.59).

* Herrn R. Bischoff, MPI f. exp. Med., Göttingen, danke ich für die Überlassung einer Probe.

3.3 Auswertung der Ergebnisse

Die Auswertung der Arbeitsergebnisse für derivatisierte Kieselgele läßt einige Feststellungen zu, die im folgenden kurz erläutert werden.

- Die KOH-Methode in Kombination mit zusätzlichen Aufschlußverfahren ist generell zur Charakterisierung käuflicher Kieselgel-Derivate geeignet.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen^{17a}, daß mit wenigen Ausnahmen kommerziell erhältliche Kieselgele der hier besprochenen Grundstrukturen mit der KOH-Schmelze charakterisierbar sind. Nach Optimierung der Reaktionsparameter können auch quantitative Bestimmungen durchgeführt werden, die bei Kenntnis der spezifischen Oberfläche der Materialien den direkten Vergleich unterschiedlicher Produkte ermöglichen.

Die analytische Technik ist reproduzierbar, einfach und ökonomisch und bietet hohen Informationsgehalt über die Struktur des jeweiligen Liganden.

Das Verfahren ist darüberhinaus sowohl hinsichtlich der chromatographischen Methode, als auch im Hinblick auf andere funktionelle Gruppen variabel.

- Der Substitutionsgrad derivatisierter Kieselgele ist unterschiedlich.

Für RP-18 Kieselgele konnte gezeigt werden, daß der Substitutionsgrad der Materialien unterschiedlich ist und sogar innerhalb der Firmenchargen variiert.

Die Belegungsdichte ist jedoch ein wichtiger Parameter für das Retentionsverhalten von HPLC-Säulenmaterialien.

Auf der Basis von % C-Werten wurde schon früher ein Einfluß des Substitutionsgrades auf K' -Werte festgestellt.¹⁴

- Monofunktionell derivatisierte Kieselgele mit definierter Struktur sind wenig verbreitet.

Auf Grund der Meßergebnisse bei RP-Kieselgelen konnten nur zwei monofunktionell gebundene Produkte festgestellt werden.

Alle anderen Materialien wurden durch Umsetzung mit di- bzw. tri-funktionellen Silanen hergestellt und sind damit in der Struktur (monomer/polymer) nicht eindeutig definiert. Ergebnisse für Produkte mit funktionellen Gruppen stehen in dieser Hinsicht noch aus.

— Ionenaustauscher sind strukturell besonders variabel

Bei Ionenaustauschern auf Kieselgelbasis werden je nach Hersteller mehrere strukturelle Parameter variiert. Die Materialien unterscheiden sich in der Spacerlänge, den Alkylsubstituenten an Aminen und in der Grundstruktur (aliphatisch/aromatisch).

Strukturelle Einflüsse von Ionenaustauschern wurden erst kürzlich untersucht.¹⁷⁵

— Viele Kieselgel-Derivate tragen neben ihren Hauptliganden noch weitere Substituenten.

Die Anwesenheit von Fremdliganden ist aus verschiedenen Gründen nicht unproblematisch.

Zum einen sinkt der erreichbare Substitutionsgrad für den erwünschten Hauptliganden ab; zum anderen sind, vor allem bei mehreren Fremdliganden, die chromatographischen Eigenschaften des Säulenmaterials kaum mehr verständlich.

So enthalten beispielsweise starke Ionenaustauscher mit aromatischer Grundstruktur erhebliche Anteile an hydrophoben Liganden, die während des Produktionswegs nicht umgesetzt wurden.

Bei aromatischen SAX Materialien wurden zusätzlich isomere quartäre Ammoniumgruppen am Spacer festgestellt, die in der Nähe der Kieselgelmatrix und damit nicht mit optimalem Abstand zum Träger fixiert sind.

Der Einsatz solcher Materialien in der HPLC muß Trennungen mit deutlichem Reversed Phase Charakter bewirken.

Bei bestimmten Ionenaustauschern wurden solche RP-Einflüsse auch chromatographisch festgestellt.^{34,176}

— Bei einigen Kieselgel-Derivaten wurden Diskrepanzen zwischen Struktur und Bezeichnung festgestellt.

Für einige Materialien stimmten die analytischen Befunde nicht mit den Herstellerangaben überein. Abgesehen von möglichen Interpretationsfehlern bei chromatographischen Resultaten, können solche Produkte nicht erfolgreich zur Ankopplung von Spezial-Liganden weiter derivatisiert werden.

Die Charakterisierung derivatisierter Kieselgele hat gezeigt, daß bei der Herstellung dieser Materialien im Hinblick auf eine definierte, einheitliche Struktur der Liganden noch viel verbessert werden kann.

Dies umfaßt sowohl die ausschließliche Verwendung monofunktioneller Silane zur Derivatisierung und deren strenge Reinheitskontrolle, als auch die Optimierung von Reaktionen, die an bereits immobilisierten Liganden durchgeführt werden und deren Reaktionskontrolle.

Die in dieser Arbeit vorgestellte analytische Technik kann bei der Verwirklichung dieser Forderung helfen.

4. ZUSAMMENFASSUNG

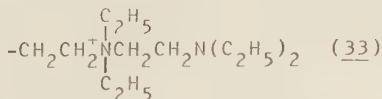
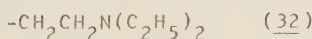
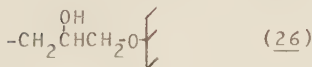
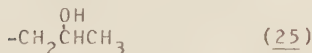
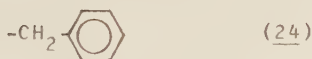
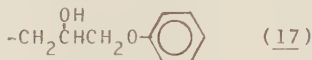
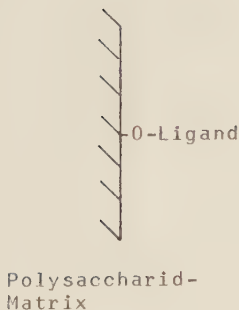
Ziel der vorliegenden Arbeit war die Charakterisierung chemisch modifizierter stationärer Phasen für die Chromatographie. Dabei wurden Derivate des Kieselgels und der Polysaccharide berücksichtigt.

Das analytische Grundprinzip beruhte auf der Abspaltung der jeweiligen Liganden von der polymeren Matrix und ihrer gaschromatographischen Analyse (GC).

Eine Strukturaufklärung unbekannter Signale erfolgte entweder durch Vergleich mit authentischen Proben oder durch GC-MS Kopplung.

So wurde die Freisetzung der ethergebundenen Liganden von Octyl- und Phenyl-Agarose (8, 17), Benzyl-Cellulose (24), Hydroxypropyl-Dextran (25) und der Quervernetzung (26) über eine Etherspaltung mit Bortribromid erreicht.

Liganden:



Typische Reaktionsprodukte waren hier für Alkyl-Substi-

tuenten die entsprechenden Bromalkane und Alkanole und für Phenyl- und Benzyl-Gruppen, Phenol bzw. Benzylbromid.

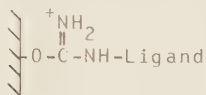
Um die im Verhältnis zu Dialkylethern langsamer ablaufende Umsetzung von Bortribromid mit Phenylethern zu optimieren, wurde 1-(2-Hydroxyethoxy)-3-phenoxy-2-propanol (20) als Modellverbindung synthetisiert.

Bei quantitativen Messungen konnten für Octyl- und Phenyl-Agarose (8,17) die vom Hersteller angegebenen Werte für den Substitutionsgrad nicht bestätigt werden. Gleichzeitig wurde deutlich, daß Materialien mit unterschiedlichen Batch-Nummern sich in der Ligandendichte merklich unterscheiden können.

Die Umsetzung von Polysacchariden mit ebenfalls ethergebundenen Diethylaminoethyl-Liganden (32) ließ überraschenderweise keine gaschromatisch verwendbaren Reaktionsprodukte entstehen, während eine synthetisierte Modellverbindung, N,N-Diethyl-2-(2-methoxyethoxy)ethylamin (36), mit BBR_3 das zu erwartende Aminoalkanol lieferte.

Die bei der Umsetzung von DEAE-Polysacchariden mit KOH gefundenen Verbindungen Diethylaminoethanol und Tetraethyl-ethylendiamin ließen sich nicht mit Struktur 32, sondern nur mit der Anwesenheit der quartären Ammonium-Gruppe (33) erklären.

Für Liganden, die über eine Isoharnstoff-Bindung an Polysaccharide gebunden vorliegen (48,49) eignete sich BBR_3 zur Abspaltung nicht.



Polysaccharid-
Matrix

Liganden:

$-\text{C}_6\text{H}_{13}$ (48)

$-\text{C}_8\text{H}_{17}$ (49)

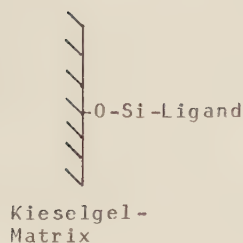
Eine Freisetzung der Substituenten konnte jedoch durch wässrige KOH erreicht werden, wobei die entstehenden primären Alkylamine Grundlage der GC-Bestimmung waren.

Bei derivatisierten Kieselgelen wurde die Freisetzung der Liganden durch Spaltung der Si-C Bindung mit einer KOH-Schmelze erreicht.

Zur Optimierung der Reaktionsbedingungen wurden mono-, di-

und tri-funktionell substituierte Modell-Kieselgele mit Octyl-und Octadecyl-Liganden synthetisiert (62-64). Während di-und tri-funktionell gebundene Alkyliliganden nach der KOH-Schmelze vorwiegend als Alkane auftraten, wurde bei monofunktionell substituierten Materialien eine Spaltung der Siloxanbindung unter Bildung von Alkyldimethylsilanol bzw. Tetramethyldialkyldisiloxan beobachtet. Unter optimierten Reaktionsbedingungen wurden zahlreiche kommerziell erhältliche Kieselgel-Derivate mit KOH umgesetzt. Dabei war in vielen Fällen die detaillierte Struktur der Liganden nicht bekannt, sodaß dort eine Struktur- aufklärung der Reaktionsprodukte durchgeführt werden mußte.

Liganden:



$-\text{CH}_3$	(RP-1)
$-\text{C}_8\text{H}_{17}$	(RP-8)
$-\text{C}_{18}\text{H}_{37}$	(RP-18)
$-(\text{CH}_2)_n$ 	(RP-Aryl)
$-(\text{CH}_2)_n-\text{SO}_3\text{H}$	(SCX)
$-(\text{CH}_2)_n$  $-\text{SO}_3\text{H}$	(SCX)
$-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$	(WCX)
$-(\text{CH}_2)_n$  $-\text{CH}_2^+\text{N}(\text{R})_3$	(SAX)
$-(\text{CH}_2)_n^+\text{NR}_3$	(SAX)
$-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}_2$	(WAX)
$-(\text{CH}_2)_n-\text{CN}$	(CN)
$-(\text{CH}_2)_n$  $-\text{NO}_2$	(NO ₂)
$-(\text{CH}_2)_3-\text{O}-\text{CH}_2\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-\underset{\text{OH}}{\text{CH}_2}$	(Diol)
$-(\text{CH}_2)_3-\text{O}-\text{CH}_2\underset{\text{O}}{\text{CH}}-\text{CH}_2$	(Epoxypropyl)

Bei RP-18 Kieselgelen wurde nach der KOH-Schmelze hauptsächlich n-Octadecan freigesetzt. Quantitative GC-Messungen zeigten auch hier erhebliche Unterschiede im Substi-

tutionsgrad der einzelnen Proben.

Bei der Umsetzung von RP-8 Materialien wurde sinngemäß n-Octan gefunden. Zwei Proben zeigten jedoch abweichende Ergebnisse. So wurden bei der Untersuchung von MOS Hyper-sil (Shandon) Dimethyloctylsilanol und Tetramethyldiocytyldisiloxan gefunden und charakterisierten das Produkt als monofunktionell derivatisiert. Für Kieselgel 60 HPLC C₈ (Riedel de Haën) wurden Isooctane als Liganden nachgewiesen.

RP-1 Kieselgele setzten Methan frei und wurden daher mit der Headspace-GC analysiert.

Bei RP-Aryl Kieselgelen war die Länge des Alkylspacers unbekannt. Die Untersuchungen zeigten, daß sowohl Materialien mit Propylspacer (n=3), als auch solche mit direkter Si-Aryl Bindung (n=0) im Handel sind.

Für die Umsetzung von Kieselgel-Derivaten mit funktionellen Gruppen mußten zum Teil modifizierte Charakterisierungsmethoden entwickelt werden, da dort in der KOH-Schmelze Produkte gebildet wurden, die nicht für die GC-Analyse geeignet waren.

So mußten SCX-Kieselgele vor der KOH-Schmelze sauer desulfoniert und NO₂-Materialien reduziert werden.

Bei CN- und WCX-Produkten war ein Ansäuern nach der Schmelze notwendig, und an Diol-Kieselgelen mußte mit BBr₃ zuvor eine Etherspaltung durchgeführt werden.

Die Ergebnisse zeigten, daß vor allem bei den Ionenaustauschern (SCX, SAX, WAX) Materialien mit unterschiedlicher Struktur angeboten werden. Die Differenzen beziehen sich generell auf Länge und Art des Spacers (n=0-3) und bei SAX-Proben zusätzlich auf die Alkylsubstituenten am quartären Stickstoff (R=CH₃-, C₂H₅-). Daneben konnte gezeigt werden, daß viele Produkte Liganden enthielten, die offensichtlich Relikte aus dem Herstellungsprozeß waren.

5. EXPERIMENTELLER TEIL

5.1 Eingesetzte Arbeitsmittel

5.1.1 Chemikalien

Bortribromid, Phenylglycidylether und N-Propylethyldiamin wurden von Fluka (Buchs/Schweiz) bezogen.

Bromcyan, Octadecyltrichlorsilan, Hexamethyldisiloxan, und Triethylenglycoldimethylether wurden von Merck (Darmstadt) und Octyltrichlorsilan, Octylmethyldichlorsilan, Octyldimethylchlorsilan, Octadecylmethyldichlorsilan und Octadecyldimethylchlorsilan von Petrarch Systems (Bristol, PA, USA) geliefert.

1,3-Dibrom-2-propanol war von Fisher Scientific Co. (Pittsburg, PA, USA), N,N-Diethyl-2-bromethylammoniumbromid von ICN (Plainview, NY, USA) und Silbercarbonat von Degussa (Frankfurt).

Alle anderen Chemikalien, sowie die verwendeten Lösungsmittel, waren Produkte der Firmen Fluka, Janssen Chimica, Merck oder Riedel de Haën und besaßen jeweils die höchste, verfügbare Reinheitsstufe.

5.1.2 Stationäre Phasen

Polysaccharid-Derivate:

Octylagarose (Octyl-Sepharose CL-4B), Phenylagarose (Phenyl-Sepharose CL-4B), Hydroxypropyl-Dextran (Sephadex LH 20) und DEAE-Dextran (DEAE-Sephadex) waren Produkte der Pharmacia Fine Chemicals AB (Uppsala, Schweden).

DEAE-Cellulose war von Whatman (Clifton, NJ, USA).

Aminohexylagarose wurde von R. de Wit (Leiden, Niederlande) synthetisiert und freundlicherweise zur Verfügung gestellt, während Aminooctylagarose von Miles (Elkhart, Ind, USA) bezogen wurde.

Benzylcellulose war Produkt der FA. Roth (Karlsruhe).

Kieselgelderivate:

Die untersuchten Kieselgelderivate hatten folgende Herkunft:

ADS, CPS, MDS und DDS (Hydrosil (Shandon:Rueshorn Großbritannien).

ADS Hydrosil, derivatisiert mit n-Detansäure wurde freundlicherweise von R. Bischoff (MPI f. exp. Med., Göttingen) zur Verfügung gestellt.

Alkylamine CPG 580 (Pierce:Rockford USA).

Bond Flut CM, PSA, SAX und SCX (Analytisches International:

Waters:Milford USA).

60 Purapak n-Octane (Waters:Milford USA).

HPLC-Sorb S11 60-0 10 CN, $N(CH_3)_2$, NH_2 und NO_2 , sowie HPLC-Sorb VAPAC-301 SB und 401 SA, sowie Nucleosil 7 C_6H_5 und C_{18} , sowie Polysil 60-S C_{18} und Nucleosil 10 $N(CH_3)_2$, NH_2 , NO_2 , SA und SB (Macherey, Nagel:Düren).

Chromosorb W 60-80 mesh, Nr. 11 90019 (Riedel de Haën:Seelze).

Chromosorb W-AU DMCS 60-80 mesh, Nr. 231055282 (Fluka: Buchs Schweiz).

Lichrosorb SP-S und RP-18 (Merck:Darmstadt).

Lichrosorb ALU, CN, C₁₈, Diol, NH_2 , RP-2, RP-S, RP-18, sowie HPLC Fertisplatten RP-2, RP-S, RP-18, und Fertisplatten RP-18 wurden freundlicherweise von Dr. Secker (Merck) zur Verfügung gestellt.

Partisil-10 SCX und SAX (Whatman:Clifton USA).

Das SCX Material wurde einer gebrauchten Säule entnommen, die freundlicherweise von P. v. Baasert (Leiden Niederlande) zur Verfügung gestellt wurde.

S11-A-10 C-S, CN, NH_2 , NO_2 und S11-A-S C-S wurden freundlicherweise von T. Borath (Perkin-Elmer:Überlingen) zur Verfügung gestellt.

Soberisorb S5 ADS C_{18} (Phase Separations:Deensferry Großbritannien).

SP 500 (epoxypropyl, phenyl und RP-S (Serva:Heidelberg).

VAPAC Anion Exchange (The Separations Group:Masseria USA).

Jorbax IVS (Du Pont:Wilmington USA).

5.1.3 Gaschromatographie

Apparative Ausstattung:

Für die GC-Messungen standen 3 Geräte mit FID-Detektoren zur Verfügung:

- Sigma 1 Gaschromatograph mit Datensystem (Perkin-Elmer)
- F 22 Gaschromatograph mit HS-6 Headspace Ausstattung (Perkin-Elmer)
- GC-3Bf Gaschromatograph (Shimadzu)

Während die beiden ersten Geräte ausschließlich mit Kapillarsäulen ausgestattet waren, wurden beim dritten Gerät nur gepackte Glassäulen verwendet:

Säule A: Glassäule, 4,7m x 3mm i. Ø, gepackt mit 0,5% OV 17 und 7% Apiezonfett I (unpolar) auf Chromosorb W-AW DMC, 80-100 mesh. (Eigenbelegung).

Säule B: Glassäule, 2,5m x 3mm i. Ø, gepackt mit 10% Octadecylamin auf Chromosorb W-AW DMC, 80-100 mesh. (Eigenbelegung).

Säule C: Quarzkapillare, 15m x 0,242mm i. Ø mit chemisch gebundener, unpolarer stationärer Phase, Typ DB-1-15 II (J & W Scientific).

Säule D: Quarzkapillare, 25m x 0,2mm i. Ø, belegt mit 5f 30 (Eigenbelegung).

Säule E: Quarzkapillare, 25m x 0,2mm i. Ø, belegt mit OV 101 (Perkin-Elmer).

Säule F: Quarzkapillare, 25m x 0,23mm i. Ø, belegt mit 5f 54 (Quadrex).

Gaschromatographische Bedingungen:

- I Säule A
Ofen: 180°C; Injektor: 200°C; Trägergas: Helium (45ml/min)
- II Säule A
Ofen: 160°C; Injektor: 200°C; Trägergas: Helium (65ml/min)
- III Säule A
Ofen: 100°C, nach 10 min Temperaturprogramm (10°C/min) auf 180°C; Injektor: 200°C; Trägergas: Stickstoff (45ml/min)
- IV Säule C
Ofen: 150°C, nach 1 min Temperaturprogramm (10°C/min) auf 250°C; Injektor/Detektor: 270°C; Trägergas: Helium (2ml/min)

- V Säule C
Ofen: Temperaturprogramm ($20^{\circ}\text{C}/\text{min}$) von 50°C - 300°C ;
Injektor/Detektor: 300°C ; Trägergas: Helium (1,2 ml/min)
- VI Säule B
Ofen: 60°C (Ausnahme: Bond Elut PSA und DEAE-Polysaccharide 80°C); Injektor: 100°C ; Trägergas: Helium (40 ml/min)
- VII Säule E im F 22 GC (Headspace)
Ofen: 22°C ; Injektor/Detektor: 40°C ; Probengeber: 22°C ;
Druckaufbauzeit: 2s; Trägergas: Helium (2 ml/min)
- VIII Säule E im F 22 GC (Headspace)
Ofen: Temperaturprogramm ($10^{\circ}\text{C}/\text{min}$) von 60°C - 200°C ;
Injektor/Detektor: 210°C ; Probengeber: 60°C ; Trägergas: Helium (2 ml/min)
- IX Säule F
Ofen: 30°C , nach 3 min Temperaturprogramm ($6^{\circ}\text{C}/\text{min}$) auf 120°C ; Injektor: 210°C ; Trägergas: Helium (2 ml/min)
- X Säule F
Ofen: 150°C , nach 1 min Temperaturprogramm ($10^{\circ}\text{C}/\text{min}$) auf 250°C ; Injektor/Detektor: 270°C ; Trägergas: Helium (2 ml/min)
- XI Säule D
Ofen: Temperaturprogramm ($10^{\circ}\text{C}/\text{min}$) von 50°C - 250°C ;
Injektor/Detektor: 210°C ; Trägergas: Helium (2 ml/min)
- XII Säule C
Ofen: 50°C , nach 1 min Temperaturprogramm ($20^{\circ}\text{C}/\text{min}$) auf 150°C ; Injektor/Detektor: 200°C ; Trägergas: Stickstoff (1,2 ml/min)

Alle Daten wurden über das Sigma Datensystem ausgewertet.

5.1.4 Charakterisierungsmethoden

Die Massenspektren wurden über ein CH7A MAT Mass-Spectrometer (Varian MAT) mit Elektronenstoß-Ionisation bei 70 eV und einer Ionenquellentemperatur von 200°C aufgenommen.*

* Frau I. Erxleben, Universität Bremen, danke ich für die Ausführung der Messungen

Zur Charakterisierung der Reaktionsprodukte von Octyl-Agarose, RP- und SAX-Kieselgelen bestand die GC-MS Kopplung zu einem Aerograph 1400 Gaschromatograph (Varian MAT) über "open split coupling". Die Interfacetemperatur betrug 270°C. Je nach Meßproblem wurden unterschiedliche GC-Bedingungen gewählt:

Octyl-Agarose (GC-Bed. IX), RP-Kieselgele (GC-Bed. X), SAX-Kieselgele (GC-Bed. XI).

Bei der Messung der Kieselgelderivate Bond Elut SAX und PSA, sowie bei Riedel C₈ bestand eine Kopplung zum F22 Headspace-Gerät (GC-Bed. VIII) unter Umgehung des FID-Detektors.

Der GC-MS Betrieb erfolgte generell im cyclischen Scan mit 17 Spektren/min bei einer Abtastfrequenz von 6 kHz.

Infrarot-Spektren wurden mit dem IR 400 Spectrometer (Shimadzu) oder dem Infracord Grating IR Spectrometer 577 (Perkin-Elmer) aufgenommen. Feststoffe wurden als KBr-Preßling, Flüssigkeiten zwischen zwei KBr-Platten gemessen.

¹H-NMR Messungen erfolgten mit dem Multikern Spectrometer WH 360Mhz (Bruker) oder dem MAT EM-360 60Mhz Spectrometer (Varian).

Elementaranalysen wurden von der Fa. Beller (Göttingen) durchgeführt.

5.2 Analyse derivatisierter Polysaccharide

5.2.1 Synthese von Modellverbindungen

5.2.1.1 1-(2-Hydroxyethoxy)-3-phenoxy-2-propanol (20)

Zu 55,8ml (1Mol) Ethandiol und 10ml einer 1,5%igen, etherrischen BF₃-Diethyletherkomplex Lösung wurden langsam 67,5ml (0,5Mol) Phenylglycidylether zugetropft. Die Lösung erwärmte sich auf 90°C. Der Verlauf der Reaktion wurde gaschromatographisch verfolgt und die Umsetzung nach Verschwinden des Glycidylethers abgebrochen (2h). Das Reaktionsprodukt wurde in 100ml Diethylether aufgenommen, mehrere Male mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet

und das Lösungsmittel schließlich im Rotationsverdampfer abgezogen.

Die Aufreinigung des erhaltenen Öls erfolgte mittels Vakuumdestillation an einer Vigreux-Kolonnen. Eine parallele GC-Überwachung der Fraktionen wurde durch Verwendung des Anschütz-Thiele-Vorstoßes möglich. Die bei 163°C (0,1 Torr) erhaltene Hauptfraktion enthielt das Produkt.

Ausbeute: 71% d.Th.

± 1-(2-Hydroxyethoxy)-3-phenoxy-2-propanol ($C_{11}H_{16}O_4$ /MG 212,24) ist eine farb- und geruchlose Flüssigkeit der Dichte $d=1,1214$. Der Brechungsindex beträgt $n_D=1,5237$.

Charakterisierung:

MS: m/e 212 = M^+ ; m/e 94 $C_6H_6O^+$ Basepeak; Ether-Ionenserie

IR: 3400 cm^{-1} = OH; $1600/1500\text{ cm}^{-1}$ = Aromat; $1120/1060\text{ cm}^{-1}$ = C-O

Ether; $760/695\text{ cm}^{-1}$ = monos. Aromat.

NMR: $\delta=7,1\text{ ppm}$, D. (5H); $\delta=4,7\text{ ppm}$, S. (1H); $\delta=4,4\text{ ppm}$, S. (1H);

$\delta=4,15-3,5\text{ ppm}$, mehr. M. (10H)

5.2.1.2 N,N-Diethyl-2-(2-methoxyethoxy)ethylamin (36)

23g (1Mol) Natrium wurden in 200ml (2,54Mol) 2-Methoxyethanol unter Kühlung umgesetzt.

130,5g (0,5Mol) N,N-Diethyl-2-bromethylammoniumbromid wurden darin gelöst. Der Ansatz wurde 5h bei 124°C unter Rückfluß erhitzt. Nach Zugabe von Wasser wurde die organische Phase abgetrennt und noch mehrmals mit Wasser gewaschen. Zur Aufreinigung wurde mit HCl zum Hydrochlorid angesäuert, mit Diethylether eine gelbe Farbkomponente ausgewaschen und anschließend das Amin mit KOH wieder in Freiheit gesetzt. Die organische Phase wurde mit Diethylether aufgenommen, abgetrennt, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Rotationsverdampfer abgezogen.

N,N-Diethyl-2-(2-methoxy)-ethylamin ($C_9H_{21}NO_2$ /MG 175,27) wurde als schwach gelbliche Flüssigkeit von typischem Amineruch mit 42% Ausbeute erhalten. Die Reinheit wurde

gaschromatographisch zu 96% (Flächen-%) bestimmt, von einer weitergehenden Aufreinigung wurde mit Hinblick auf die lediglich qualitative Verwendung als Modellverbindung abgesehen.

Charakterisierung:

MS: m/e 175 (0,1%), M^+ ; m/e 86 (100%), Basepeak, aus β -Spaltung von Aminen.

IR: 2850 cm^{-1} = C-H Valenzschw.; 1700 cm^{-1} = C=O Valenzschw.

NMR: δ = 3,6 ppm, T. (6H); δ = 3,34 ppm, S. (3H); δ = 2,66 ppm,

T. (2H); δ = 2,56 ppm, Q. (4H); δ = 1,02 ppm, T. (6H)

5.2.2 Charakterisierung von Reaktionsprodukten

5.2.2.1 Beispiel: Octyl-Agarose (8)

Octyl-Agarose (8) wurde, wie unter 5.2.3.1 beschrieben, ohne Standardzugabe mit BBr_3 umgesetzt (vergl. Abb. 5, S. 13) und mit der GC-MS Kopplung untersucht (GC-Bed. IX).

Die Massenspektren der Signale (Abb. 61-67) wurden mit der Literatur¹⁴¹ verglichen.

1-Octanol (Abb. 61):

m/e 130 (M^+) nicht erkennbar; m/e 112 (8%), $M^+ - \text{H}_2\text{O}$; Ionenserie der Alkane und Alkene ($n \cdot \text{H}_2\text{O}$ -Abspalt.); m/e 41 (100%), Basepeak

4-Bromooctan (Abb. 62):

m/e 192/194 (M^+) unter 0,1%; m/e 113 (30%), $M^+ - \text{Br}$, Ionenserie der Alkane; m/e 57 (100%) Basepeak

2-Bromooctan (Abb. 63):

m/e 192/194 (M^+) unter 0,1%; m/e 135/137 (2%), $M^+ - \text{C}_4\text{H}_9$; m/e 113 (30%), $M^+ - \text{Br}$; Ionenserie der Alkane; m/e 55 (100%) Basepeak

1-Bromooctan (Abb. 64):

m/e 192/194 M^+ (3%); m/e 149/151 (20%), $M^+ - \text{C}_3\text{H}_7$; m/e 135/137 (100%), Basepeak, $\text{C}_4\text{H}_8\text{Br}^+$ (cycl. Bromoniumion); Ionenserie der Alkane

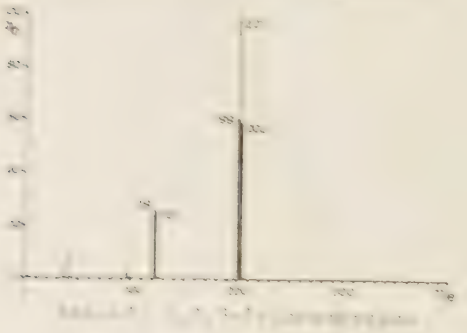
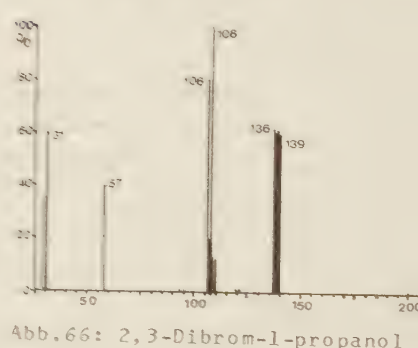
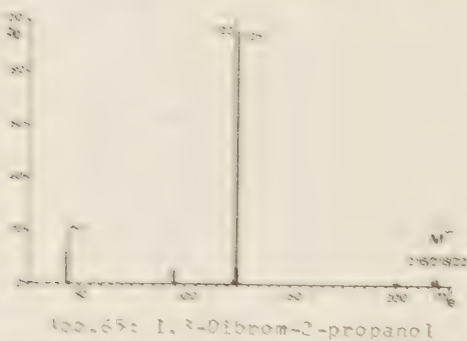
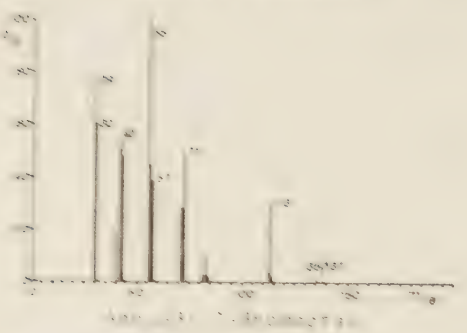
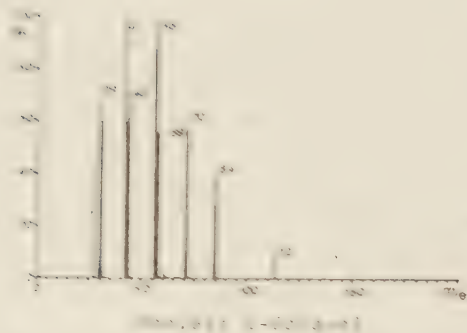


Abb. 61-67:
Massenspektren von Reaktionsprodukten der Octyl-Agarose mit BBr_3

1,3-Dibrom-2-propanol (Abb.65):

m/e 216/218/220 (3%), M^+ ; 123/125 (100%), Basepeak, $M^+ - CH_2 - Br$

2,3-Dibrom-1-propanol (Abb.66):

m/e 216/218/220 (M^+) unter 0,1%; m/e 137/139 (60%), $M^+ - Br$;

m/e 136/138 (60%), $M^+ - HBr$; m/e 106/108 (100%), Basepeak,

$C_2H_3Br^+$

1,2,3-Tribrompropan (Abb.67):

m/e 284/282/280/278 (M^+) unter 0,1%; m/e 199/201/203 (100%),

Basepeak, $M^+ - Br$; m/e 119/121 (23%), $M^+ - Br - HBr$

5.2.3 Untersuchung käuflicher Polysaccharid-Derivate

5.2.3.1 Octyl-Agarose (8)

Octyl-Agarose wurde mehrere Male mit Wasser gewaschen, um Stabilisatoren zu entfernen. Nach dem Setzen des Gels (12h) wurde das Gelvolumen auf 1ml korrigiert, verlustfrei in einen kleinen Filter mit Glasfritte gebracht und nach Angaben von Hjertén et al.⁷⁵ über ein Hilfssolvens (Aceton) in die Dichlormethan-Phase überführt. Dabei wurde auf sorgfältige Entfernung des Acetons geachtet (GC), das störende GC-Signale auf Grund seiner Reaktionsprodukte mit BBr_3 liefert.

Zur Umsetzung wurde das Gel vollständig in einen 5ml Meßkolben gebracht, 600µl Dichlormethan addiert und der Kolben in ein thermostatisiertes Bad bei 30°C gestellt.

500µl einer 1,17 molaren BBr_3 -Lösung in Dichlormethan wurden zur Etherspaltung hinzugefügt. Nach 5min wurde mit 6 x 50µl wässriger NaOH (10%) hydrolysiert und nach weiteren 5min mit 690mg (2,5mmol) Silbercarbonat neutralisiert.

Der Kolben wurde für kurze Zeit ins Ultraschall-Bad zur besseren Durchmischung gestellt, sodann 13,2µmol n-Dodecan in 500µl Aceton als interner Standard hinzugefügt und der Kolben bis zur 5ml-Marke mit Aceton aufgefüllt.

Die GC-Analyse erfolgte nach den GC-Bedingungen I.

Die vergleichende Standardlösung (5ml) enthielt 5µmol 1-Octanol, 20µmol 1-Bromooctan, 10µmol 2-Bromooctan, 1µmol 4-Bromooctan und 13,2µmol n-Dodecan in Aceton.

Die Trockengewichte der einzelnen Proben betrugen:

35,8mg/ml (9080), 37mg/ml (3375), 39mg/ml (11143)

5.2.3.2 Phenyl-Agarose (17)

Phenyl-Agarose wurde in der gleichen Weise wie Octyl-Agarose behandelt. Lediglich die Reaktionszeit mit BBr_3 wurde auf 1h verlängert und als interner Standard wurde n-Undecan verwendet (GC-Bed.II).

Der vergleichende Standard (5ml) enthielt neben dem internen Standard 20µMol Phenol.

Das Trockengewicht der Phenyl-Agarose betrug 35,4mg/ml (9705).

5.2.3.3 Benzyl-Cellulose (24)

In einem 5ml Meßkolben wurden 30mg Benzylcellulose eingewogen und durch Zugabe von 1ml Dichlormethan in Lösung gebracht. Während der Kolben in einem thermostatisierten Bad bei 30°C stand, wurden 42µl (436µMol) BBr_3 hinzugefügt.

Nach einer Minute wurde die Reaktion durch Zugabe von 200µl wässriger NaOH (10%) beendet und anschließend 20µl (77µMol) n-Tetradecan als interner Standard zugefügt. Der Kolben wurde bis zur 5ml-Marke mit Aceton aufgefüllt und eine Probe zur GC-Analyse (GC-Bed.I) entnommen.

Der vergleichende Standard enthielt 77µMol Tetradecan und 20 µl (18,4µMol) Benzylbromid in 5ml Aceton.

5.2.3.4 Hydroxypropyl-Dextran (25)

100mg Hydroxypropyl-Dextran wurden mit Wasser zur Quellung gebracht. Ein Milliliter Gel wurde anschließend in die Dichlormethan-Phase überführt und mit BBr_3 umgesetzt, wie schon ausführlich unter 5.2.3.1 beschrieben. Die GC-Analyse erfolgte nach den GC-Bedingungen III.

5.2.3.5 DEAE-Polysaccharide (32)

50mg festes DEAE-Polysaccharid wurden mit 200mg (3,56mMol) KOH bei 200°C für 1h in einer offenen Glasampulle umgesetzt. Nach dem Erkalten wurden 200µl Diethylether hinzugegeben und daraus Proben für GC-Messungen entnommen (GC-Bed.VI).

5.2.3.6 Aminoalkyl-Agarosen (48/49)

Zu 1ml Aminoalkylagarose (wässrige Phase) in einem Probenröhrchen wurde 1ml 50%ige KOH-Lösung gegeben. Nach 5min kamen 100µl Hexan hinzu und die GC-Analyse auf Amine wurde nach den GC-Bedingungen XII durchgeführt.

5.3 Analyse derivatisierter Kieselgele

5.3.1 Synthese von Modell-Kieselgelen (62-64)

1g Kieselgel (Kieselgel 60) wurde 4h bei 200°C über P₂O₅ getrocknet. Das Material wurde in einem mit N₂ gespülten Kolben mit 30ml wasserfreiem Toluol suspendiert. Hinzukamen 2mMol Octadecyltrichlorsilan (Methyloctadecyldichlorsilan/Dimethyloctadecylchlorsilan) und 1,25ml trockenes Pyridin.

Nach 12h Erhitzen unter Rückfluß wurde das derivatisierte Kieselgel auf einer Glasfritte mit Toluol, Aceton und Wasser nacheinander gewaschen und anschließend bei 80°C getrocknet. Eine Charakterisierung erfolgte über die Elementaranalyse und die KOH-Schmelze.

Kieselgel-Derivate mit Octylgruppen wurden in der gleichen Weise hergestellt.

5.3.2 Charakterisierung von Reaktionsprodukten

5.3.2.1 Beispiel: 1,1,3,3-Tetramethyl-1,3-dioctyldisiloxan (66)

200mg MOS Hypersil wurden mit 2g (35,6mMol) KOH für 1h bei 200°C erhitzt. Die erkaltete Schmelze wurde mit Pentan ge-

spült und der Extrakt, nachdem eine Probe zur GC-MS Untersuchung entnommen worden war, solange im offenen Glas erhitzt, bis Signal b aus Abb. 27 (S. 40) vollständig entfernt war (GC). Der Rückstand wurde mit Pentan bzw. CDCl_3 aufgenommen und mit IR und ^1H -NMR charakterisiert.

MS*:

Die beobachtete Fragmentierung (Abb. 68) ergibt sich aus der Abspaltung von Methyl- und Octyl-Gruppen, sowie der Freisetzung von Octen als Neutralteilchen. Fragmentierungserscheinungen der Alkylkette fehlen fast völlig.

m/e 358 (7%), M^+
 m/e 343 (27%), $\text{M}^+ - \text{CH}_3$
 m/e 245 (97%), $\text{M}^+ - \text{C}_8\text{H}_{17}$
 m/e 231 (22%), $\text{M}^+ - \text{CH}_3 - \text{C}_8\text{H}_{16}$
 m/e 133 (100%), $\text{M}^+ - \text{C}_8\text{H}_{16} - \text{C}_8\text{H}_{17}$, Basepeak
 m/e 119 (28%), $\text{M}^+ - 2 \text{C}_8\text{H}_{16} - \text{CH}_3$

^1H -NMR*:

Aufnahme eines 200MHz-Spektrums in CDCl_3 , Standard TMS (Abb. 69).

$\delta = 0,05 \text{ ppm}$ Singulett (12H), $4(\text{CH}_3 - \text{Si})$
 $\delta = 0,50 \text{ ppm}$ Triplett (4H), $2(\text{C} - \text{CH}_2 - \text{Si})$, $J = 8 \text{ Hz}$
 $\delta = 0,88 \text{ ppm}$ Triplett (6H), $2(\text{CH}_3 - \text{C})$, $J = 7 \text{ Hz}$
 $\delta = 1,27 \text{ ppm}$ Singulett (24H), $2(\text{C} - (\text{CH}_2)_6 - \text{C})$

IR:

Der Pentan-Extrakt wurde mit KBr vermennt, das Lösungsmittel abgedampft und ein Preßling angefertigt (Abb. 70).

$1440/1250 \text{ cm}^{-1} = \text{C-H Def.-Schw. in Methylsilanen}$; $1050 \text{ cm}^{-1} = \text{Si-O-Si Val.-Schw. in Alkyldisiloxanen}$; $835 \text{ cm}^{-1} = \text{C-H Def.-Schw. in Alkylsilanen}$; $790 \text{ cm}^{-1} = \text{Si-C Val.-Schw. der Trimethylsilylgruppe}$.

* Herrn Dr. Seeger (MPI f. exp. Med., Göttingen) danke ich für die Aufnahme des ^1H -NMR-Spektrums, Herrn Dr. Schiebel (TU Braunschweig) für die Ausführung der GC-MS Messung.

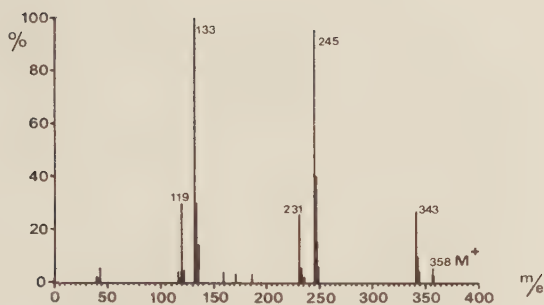


Abb. 68: Massenspektrum von 1,1,3,3-Tetramethyl-1,3-dioctyldisiloxan

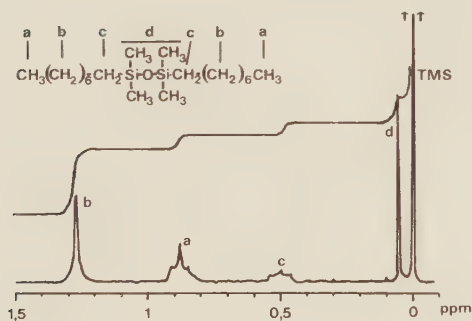


Abb. 69: ^1H -Kernresonanz-Spektrum von 1,1,3,3-Tetramethyl-1,3-dioctyldisiloxan (200MHz, CDCl_3 , TMS-Standard)

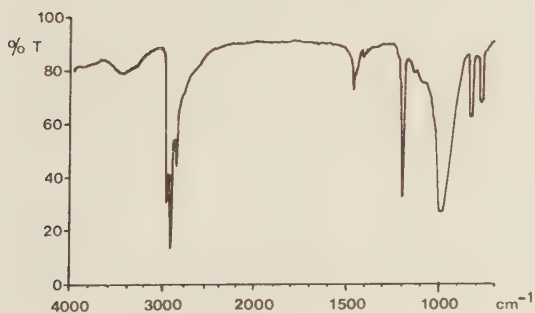


Abb. 70: Infrarot-Spektrum von 1,1,3,3-tetramethyl-1,3-dioctyldisiloxan (KBr-Preßling)

5.3.2.2 Beispiel: RP-5 Kieselgel

10mg RP-8 Kieselgel (Riedel) wurden zusammen mit 100mg KOH ohne TEGDE im speziellen Probenglas für die Headspace-Analyse eingeschlossen und für 10min bei 200°C umgesetzt. Nach der Probenaufgabe mit der Headspace-Technik wurden für die Reaktionsprodukte über eine GC-MS Kopplung die jeweiligen Massenspektren aufgenommen (GC-Bed.VIII). Neben den hier nicht belegten, eindeutigen Befunden für THF und Benzol, wurden Spektren mit typischen Fragmentierungsmustern von C₈-Alkanen und einem C₈-Alken gefunden (Abb. 71-76). Für alle 18 möglichen Isomere lagen Referenzspektren vor.

Während 2,2,3- und 2,3,4- Trimethylpentan auf Grund ihrer Fragmentierung eindeutig identifiziert werden konnten, war die Zuordnung der beiden Hauptkomponenten (Signale e und g aus Abb.31, S.51) infolge fast identischer Spektren zunächst nicht möglich.

Über die Retentionszeit der Referenz im GC und den Siedepunkt konnte jedoch 2,2,4-Trimethylpentan als Hauptkomponente identifiziert werden. Das zweite, kleinere Signal zeigte ein Fragmentierungsmuster, das auf den ersten Blick sowohl für 2,2-Dimethylhexan, als auch für 2,2,3,3-Tetramethylbutan zutreffend war. Auch die Siedepunkte der beiden Verbindungen differierten nur um 0,5°C, sodaß auch aus der Lage des Signals im Vergleich zu anderen Isomeren keine Schlüsse gezogen werden konnten.

Eine genauere Untersuchung der Fragmente ließ aber doch das Vorliegen von Dimethylhexan vermuten. Diese Annahme ist auch unter Berücksichtigung der Si-C Bindung als wahrscheinlich anzunehmen, da zumindest die Hydrosilylierung als Synthesemethode auf Grund der unmöglichen Alkenvorstufen beim Tetramethylbutan ausgeschlossen ist.

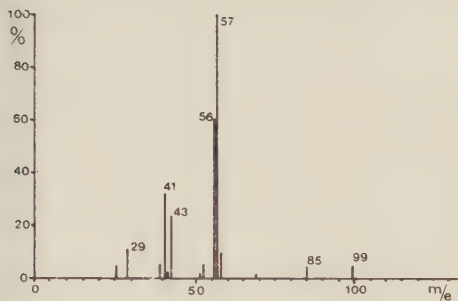


Abb. 71: 2,2,3-Trimethylpentan
(Sdp.: 110°C)

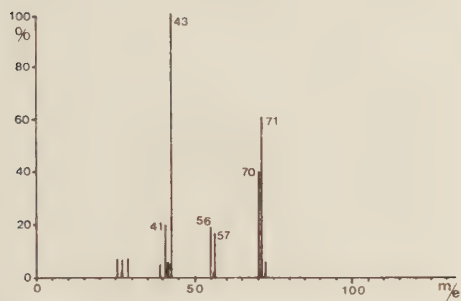


Abb. 72: 2,3,4-Trimethylpentan
(Sdp.: 113,5°C)

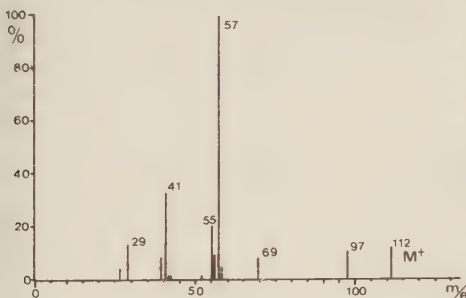


Abb. 73: 2,4,4-Trimethyl-1-penten
(Sdp.: 101,5°C)

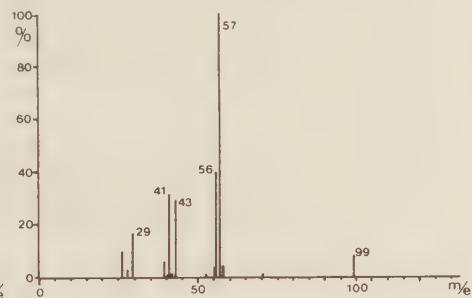


Abb. 74: 2,2,4-Trimethylpentan
(Sdp.: 29,2°C)

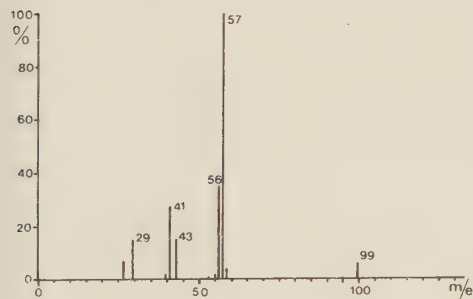


Abb. 75: 2,2-Dimethylhexan
(Sdp.: 107°C)

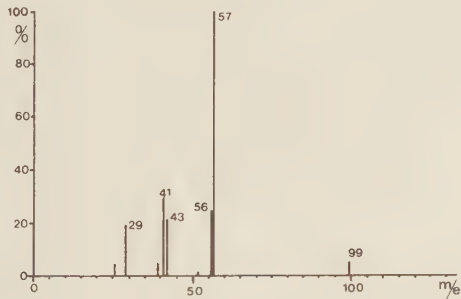


Abb. 76: 2,2,3,3-Tetramethylbutan
(Sdp.: 106,5°C) Referenz

Abb. 71-76: Massenspektren der Reaktionsprodukte von RP-8 Kieselgel (Riedel) nach KOH-Schmelze bei 200°C.

5.3.3 Untersuchung käuflicher Kieselgel-Derivate

5.3.3.1 RP-18

Zur Bestimmung des Substitutionsgrads wurden jeweils 10mg RP-18 Kieselgel zusammen mit 100mg (1,78mMol) festem KOH in einer Glasampulle (110 x 5mm Ø) eingewogen und über P_2O_5 für 12h getrocknet. 200µl TEGDE wurden addiert und die Ampulle bis in Höhe der Füllung unverschlossen in ein isothermes Siliconöl-Bad von 216°C getaucht. Nach 2h wurde das Reaktionsgefäß entnommen und nach 30s 100µl H_2O zur Verhinderung einer KOH-Kristallisation hinzugegeben. Im Eisbad wurden anschließend 100µl einer Lösung von Heptadecan in n-Hexan (3,23 µMol) als interner Standard und 140µl HCl (37%) zur Neutralisation zugefügt. Nach dem Zentrifugieren wurde die obere, klare Hexan-Phase zur GC-Analyse benutzt (GC-Bed.IV).

Zur Quantifizierung wurde eine vergleichende Standardlösung mit 500µMol n-Octadecan, 100µMol Octadecanol-1, sowie 323µMol n-Heptadecan in 10ml n-Hexan benutzt.

5.3.3.2 RP-8/RP-Aryl

10mg RP-8 Kieselgel wurden zusammen mit 100mg KOH und 100µl TEGDE in einer verschlossenen Glasampulle für 1h bei 200°C umgesetzt. Nach dem Abkühlen wurde die Ampulle in ein Eisbad gestellt, während mit einem Heißluftgebläse deren Spitze solange erwärmt wurde, bis alle dort kondensierten Tröpfchen verschwunden waren. Die Ampulle wurde geöffnet und 100µl n-Pentan als Extraktionsmittel für die GC-Analyse zugegeben (GC-Bed.V).

5.3.3.3 RP-1

10mg Probe wurden zusammen mit 100mg KOH in einem speziellen Probenglas für die Headspace-GC eingeschlossen und für 15min auf 200°C erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde der Dampf-raum über der Schmelze mit der Headspace-Technik auf Methan

hin untersucht (GC-Bed.VII).Bei TMS-Gruppen wurde verfahren, wie für RP-8 beschrieben (GC-Bed.V).

5.3.3.4 SCX

10mg SCX-Kieselgel wurden mit 100µl Jodwasserstoffsäure (57%) in abgeschlossener Glasampulle für 2h bei 200°C erhitzt.Nach dem Abkühlen und Öffnen wurden 1ml H₂O und anschließend 100µl Pentan zugefügt.Der Pentanextrakt wurde mit GC auf Benzol hin untersucht (GC-Bed.VI).Das desulfonierte SCX-Kieselgel wurde in der Ampulle erwärmt und unter vermindertem Druck getrocknet.Die Weiterbehandlung mit KOH und TEGDE, sowie die Analyse erfolgten, wie bereits für RP-8 beschrieben.

5.3.3.5 WCX

10mg WCX-Kieselgel wurden zusammen mit 100mg KOH in offener Glasampulle für 1h bei 200°C erhitzt.Nach dem Abkühlen wurde die Probe im Eisbad vorsichtig mit verd. HCl angesäuert und nach Abklingen der Reaktion mit 100µl Diethylether für die GC-Analyse (GC-Bed.IV) versetzt.

5.3.3.6 SAX/WAX

10mg Probe wurden zusammen mit 100mg KOH in einer geschlossenen Glasampulle für 1h bei 200°C erhitzt.Nach dem Abkühlen wurde die Ampulle ins Eisbad gestellt, während mit dem Heißluftgebläse alle kondensierten Tröpfchen in der Nähe der Öffnungsstelle entfernt wurden.Nach dem Öffnen wurden 100µl Diethylether für die GC-Analyse hinzugefügt. Aromatische SAX-Proben wurden mit GC-Bedingungen V, aliphatische SAX-und alle WAX-Kieselgele mit den GC-Bedingungen VI gemessen.

Informationen über die Natur des abgespaltenen Alkens bei aliphatischen SAX-Materialien konnten über die Headspace-Technik erhalten werden(GC-Bed.VII).

5.3.3.7 NO₂

10mg NO₂-Kieselgel, 100µl Hydrazinhydrat (80%), sowie 10µl einer Raney-Nickel Suspension in Ethanol (W2) wurden in einer offenen Glasampulle bei 100°C gehalten, bis die Gasentwicklung nachgelassen hatte. Das Hydrazin wurde unter vermindertem Druck abgedampft und die Nickelreste so gut, wie möglich mit einem Magneten entfernt. Das reduzierte NO₂-Material wurde zusammen mit 100mg KOH in der nun verschlossenen Ampulle für 1h bei 200°C erhitzt. Nach dem Abkühlen und Öffnen wurden 100µl Diethylether für die GC-Analyse (GC-Bed.V) addiert, gefolgt von 10µl Trifluoressigsäureanhydrid zur Derivatisierung.

5.3.3.8 CN

CN-Materialien wurden zusammen mit KOH geschmolzen, angesäuert und analysiert, wie bereits für WCX beschrieben.

5.3.3.9 Diol

10mg Diol-Kieselgel wurden mit 100µl BBr₃ in Pentan (1M) in einer offenen Glasampulle zur Reaktion gebracht. Der Überstand wurde 5min abpipettiert, mit 200µl H₂O hydrolysiert und analysiert (GC-Bed.V). Das in der Ampulle verbliebene Kieselgel wurde bis zur Trockne erwärmt und anschließend mit KOH nach den Bedingungen für SAX/WAX umgesetzt und auf 1-Propanol hin analysiert (GC-Bed.VI).

5.3.3.10 Amid

Die Probe wurde zunächst mit KOH umgesetzt und analysiert, wie unter WAX bereits beschrieben, der feste Rückstand der Schmelze jedoch im Eisbad mit HCl angesäuert, 100µl Diethylether wurden als Extraktionsmittel hinzugefügt und der Extrakt mit GC (GC-Bed.V) auf Octansäure getestet.

6. LITERATUR

- 1 J.Janák, J.Čoupek, M.Krejčí, O.Mikeš and J.Turková,
Techniques of Liquid Chromatography/Sorbents,
in Z.Deyl, K.Macek and J.Janák (Editors),
Liquid Column Chromatography,
Elsevier Scient.Publ., Amsterdam, 1975, S.169
- 2 Affinity Chromatography, principles & methods,
Pharmacia Fine Chemicals AB,
Uppsala, 1979
- 3 I.Halász,
Columns for Reversed Phase Liquid Chromatography,
Anal.Chem., 52, 1393 A (1980)
- 4 H.F.Walton,
Ion Exchange and Liquid Column Chromatography,
Anal.Chem., 50, 36R (1978)
- 5 S.Ohlson, L.Hansson, P.-O.Larsson and K.Mosbach,
High Performance Liquid Affinity Chromatography (HPLC)
and its Application to the Separation of Enzymes and
Antigens,
FEBS Lett., 93, 5 (1978)
- 6 S.H.Chang, K.M.Gooding and F.E.Regnier,
Use of Oxiranes in the Preparation of Bonded Phase
Supports,
J.Chromatogr., 120, 321 (1976)
- 7 S.H.Chang, K.M.Gooding and F.E.Regnier,
High-Performance Liquid Chromatography of Proteins,
J.Chromatogr., 125, 103 (1976)
- 8 H.W.Schmitt and J.E.Walker,
Coupling Capacity of Solid Phase Sequencing Supports,
FEBS Lett., 81, 403 (1977)
- 9 H.H.Weetall and A.M.Filbert,
Porous Glass for Affinity Chromatography Applications,
Methods Enzymol., 34, 59 (1974)
- 10 P.Roumeliotis, K.K.Unger, A.A.Kurganov and V.A.Davankov,
Chirale Kieselgelphasen mit monomerem über Alkyl- oder
Alkylbenzylketten N-gebundenem L-Prolin oder L-Hydroxy-
prolin zur Trennung der Enantiomere von α -Aminosäuren
durch HPLC,
Angew.Chem., 94, 928 (1982)
- 11 P.Tundo, P.Venturello and E.Angeletti,
Phase Transfer Catalysts Immobilized and Adsorbed on
Alumina and Silica Gel,
J.Am.Chem.Soc., 104, 6551 (1982)
- 12 M.Nakajima, K.Kimura and T.Shono,
Liquid Chromatography of Alkali and Alkaline Earth Metal
Salts on Poly(benzo-15-crown-5)- and Bis(benzo-15-crown-
5)-Modified Silicas,
Anal.Chem., 55, 463 (1983)

- 13 P.Špaček, M.Kubin, S.Vozka and B.Porsch,
Influence of the Amount of Bonded Non-Polar Phase and
of the Length of Attached Alkyl Chains on Retention
Characteristics of Silica-Based Sorbents for Reversed-
Phase High-Performance Liquid Chromatography,
J.Liquid Chromatogr., 3, 1465 (1980)
- 14 H.C.Hennion, C.Picard and M.Caude,
Influence of the Number and Length of Alkyl Chains on
the Chromatographic Properties of Hydrocarbonaceous
Bonded Phases',
J.Chromatogr., 166, 21 (1978)
- 15 R.P.W.Scott and P.Kucera,
Examination of Five Commercially Available Liquid
Chromatographic Reversed Phases Including the Nature
of the Solute-Solvent-Stationary Phase Interactions
Associated with them,
J.Chromatogr., 142, 213 (1977)
- 16 H.Colin, N.Ward and G.Guiochon,
Comparison of Some Packings for Reversed-Phase High-
Performance Liquid-Solid Chromatography,
J.Chromatogr., 149, 169 (1978)
- 17 C.Hansson, G.Agrup, H.Rorsman, A.-M.Rosengren, E.Rosengren
and L.-E.Edholm,
Analysis of Cysteinyldopas, Dopa, Dopamine, Noradrenaline
and Adrenaline in Serum and Urine Using High-Perfor-
mance Liquid Chromatography and Electrochemical De-
tection,
J.Chromatogr., 162, 7 (1979)
- 18 A.Sokolowski and K.-G.Wahlund,
Peak Tailing and Retention Behaviour of Tricyclic
Antidepressant Amines and Related Hydrophobic Ammo-
nium Compounds in Reversed-Phase Ion-Pair Liquid
Chromatography on Alkyl-Bonded Phases,
J.Chromatogr., 189, 299 (1980)
- 19 A.L.Colmsjö and J.C.Mac Donald,
Column-Induced Selectivity in Separation of Polynuclear
Aromatic Hydrocarbons by Reversed-Phase, High-Performance
Liquid Chromatography,
Chromatographia, 13, 350 (1980)
- 20 R.E.Majors,
Recent Advances in HPLC Packings and Columns,
J.Chromatogr.Sci., 18, 488 (1980)
- 21 H.Engelhardt and H.Müller,
Chromatographic Characterization of Silica Surfaces,
J.Chromatogr., 218, 395 (1981)
- 22 A.P.Goldberg,
Comparison of Columns for Reversed-Phase Liquid Chro-
matography,
Anal.Chem., 54, 342 (1982)

- 23 R.M.Smith,
Comparison of Reversed-Phase Liquid Chromatography
Columns Using "Rohrschneider" Type Constants,
J.Chromatogr.,236,321 (1982)
- 24 R.M.Smith,
Separation of Aromatic Compounds on Phenyl-Bonded
Silica,
J.Chromatogr.,237,144 (1982)
- 25 P.Helboe,
Determination of Impurities in Propanolol Hydro-
chloride by High-Performance Liquid Chromatography
on Dynamically Modified Silica,
J.Chromatogr.,245,229 (1982)
- 26 M.Zakaria and P.R.Brown,
Stationary Phase Effects on the Reversed-Phase
Liquid Chromatographic Retention Behavior of Purine
and Pyrimidine Compounds,
J.Chromatogr.,255,151 (1983)
- 27 K.Ogan and E.Katz,
Retention Characteristics of Several Bonded-Phase
Liquid Chromatography Columns for some Polycyclic
Aromatic Hydrocarbons,
J.Chromatogr.,188,115 (1980)
- 28 H.-G.Genieser,
Staatsexamensarbeit,Universität Bremen,Bremen 1979
- 29 N.Tanaka,H.Goodell and B.L.Karger,
The Role of Organic Modifiers on Polar Group Selec-
tivity in Reversed-Phase Liquid Chromatography,
J.Chromatogr.,158,233 (1978)
- 30 R.V.Vivilecchia,R.L.Cotter,R.J.Limpert,N.Z.Thimot
and J.N.Little,
Considerations of Small Particles in Different Modes
of Liquid Chromatography,
J.Chromatogr.,99,407 (1974)
- 31 C.Dewaele,P.Mussche and M.Verzele,
Endcapping of High Performance Liquid Chromatography
Packings Derived from Silica Gel,
J.High Resolut.Chromatogr.,
Chromatogr.Comm.,5,616 (1982)
- 32 L.Hansson and L.Trojer,
Characterization of Reversed-Phase High-Performance
Liquid Chromatographic Stationary Phases by Means
of Pyrolysis-Gas Chromatography,
J.Chromatogr.,207,1 (1981)
- 33 C.J.Little,A.D.Dale and M.B.Evans,
Screen for the Evaluation of Chemically Bonded Supports
Used in Reversed-Phase High-Performance Liquid Chro-
matography,
J.Chromatogr.,153,381 (1978)

- 34 P.J.M.v.Haastert,
High-Performance Liquid Chromatography of Nucleobases,
Nucleosides and Nucleotides
II.Mobile Phase Composition for the Separation of
Charged Solutes by Ion-Exchange Chromatography,
J.Chromatogr.,210,241 (1981)
- 35 P.Roumeliotis and K.K.Unger,
Strukture and Properties of n-Alkyldimethylsilyl
Bonded Silica,Reversed-Phase Packings,
J.Chromatogr.,149,211 (1978)
- 36 J.Turková (Editor),
Affinity Chromatography,
Elsevier Scient.Publ.Comp.,Amsterdam,1978
- 37 F.M.Nicolaisen,I.Meyland and K.Schaumburg,
 ^{13}C NMR Spectra at 67,9 MHz of Aqueous Solutions of
Agarose and Partly 6-O-Methylated Agarose at 95°C ,
Acta Chem.Scand.,B34,103 (1980)
- 38 J.Rosengren,S.Påhlman,M.Glad and S.Hjertén,
Hydrophobic Interaction Chromatography on Noncharged
Sephacrose Derivates,Binding of a Model Protein,Rela-
ted to Ionic Strength,Hydrophobicity of the Substi-
tuent,and Degree of Substitution (Determined by NMR),
Biochim.Biophys.Acta,412,51 (1975)
- 39 W.Kißing and R.H.Reiner,
Chromatographic Investigation into the Interaction
between Proteins and Polymer Matrices,
Agarose Gels with Substituents of Different Length
and Hydrophobicity,
Chromatographia,11,83 (1978)
- 40 G.Halperin,M.Breitenbach,M.Tauber-Finkelstein and
S.Shaltiel,
Hydrophobic Chromatography on Homologous Series of
Alkylagaroses
A Comparison of Charged and Electrically Neutral
Column Materials,
J.Chromatogr.,215,211 (1981)
- 41 C.J.Clemett,
Determination of the Molar Substitution of Cellulose
Ethers Using Proton Magnetic Resonance,
Anal.Chem.,45,186 (1973)
- 42 F.Halmo,
Určenie molárnej substitúcie methyl-,hydroxypropyléterov
celulózy pomocou ^1H NMR spektroskopie,
Petrochémia,19,193 (1979)
- 43 C.J.Homcy,S.M.Wrenn and E.Haber,
Demonstration of the Hydrophilic Character of Adenylate
Cyclase following Hydrophobic Resolution on Immobilized
Alkyl Residues,
J.Biol.Chem.,252,8957 (1977)
- 44 D.Slotfeldt-Ellingsen and H.A.Resing,
Motions of Phenyl Groups Chemically Bound to Silica
Gel,Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance,
J.Phys.Chem.,84,2204 (1980)

- 45 D.W.Sindorf and G.E.Maciel,
¹³C CP/MAS NMR Study of Molecular Motion in n-Alkyl-
silanes Bonded to the Silica Surface,
J.Am.Chem.Soc.,105,1848 (1983)
- 46 G.E.Maciel,D.W.Sindorf and V.J.Bartuska,
Characterization of Silica-Attached Systems by ²⁹Si
and ¹³C Cross-Polarization and Magic-Angle Spinning
Nuclear Magnetic Resonance,
J.Chromatogr.,205,438 (1981)
- 47 E.Bayer,K.Abert,J.Reiners and M.Nieder,
Characterization of Chemically Modified Silica Gels
by ²⁹Si and ¹³C Cross-Polarization and Magic Angle
Spinning Nuclear Magnetic Resonance,
J.Chromatogr.,264,197 (1983)
- 48 R.E.Majors and M.J.Hopper,
Siloxane Phases Bonded to Silica Gel for Use in
High-Performance Liquid Chromatography,
J.Chromatogr.Sci.,12,767 (1974)
- 49 J.L.M.van de Venne,J.P.M.Rindt,G.J.M.M.Coenen and
C.A.M.G.Cramers,
Synthesis of a Nonpolar,Chemically Bonded Stationary
Phase with Low Residual Hydroxyl Group Content,
Chromatographia,13,11 (1980)
- 50 H.Hemetsberger,W.Maasfeldt and H.Ricken,
The Effect of Chain Length of Bonded Organic Phases
in Reversed Phase High Performance Liquid Chromato-
graphy,
Chromatographia,9,303 (1976)
- 51 L.C.Sander,J.B.Callis and L.R.Field,
Fourier Transform Infrared Spectrometric Determination
of Alkyl Chain Conformation on Chemically Bonded
Reversed-Phase Liquid Chromatography Packings,
Anal.Chem.,55,1068 (1983)
- 52 S.G.Bush,J.W.Jorgenson,M.L.Miller and R.W.Linton,
Transmission Near-Infrared Technique for Evaluation
and Relative Quantitation of Surface Groups on Silica,
J.Chromatogr.,260,1 (1983)
- 53 W.Holstein,D.Severin und H.H.Belz,
Charakterisierung chemisch modifizierter Kieselgele
für die Hochleistungsflüssigkeits-Chromatographie
mit der Fourier-Transform-Infrarot-Spektroskopie,
Fresenius Z.Anal.Chem.,314,469 (1983)
- 54 C.H.Lochmüller and D.R.Wilder,
Quantitative Photoacoustic Spectroscopy of Chemically-
Modified Silica Surfaces,
Anal.Chim.Acta,118,101 (1980)
- 55 C.H.Lochmüller,S.F.Marshall and D.R.Wilder,
Photoacoustic Spectroscopy of Chemically Bonded Chro-
matographic Stationary Phases,
Anal.Chem.,52,19 (1980)

- 56 G.E.Berendsen,
Preparation and Charakterization of Well-Defined
Chemically Bonded Stationary Phases for High Pressure
Liquid Chromatography,
Ph.D.-Thesis, Technische Hogeschool Delft, Delft
University Press, Delft, 1980
- 57 M.Verzele, P.Mussche and P.Sandra,
Characterization of High-Performance Liquid Chromato-
graphic Stationary Phases: The Nature of Silica Gel
bonded Material,
J.Chromatogr., 190, 331 (1980)
- 58 J.-F.Erard and E.sz.Kováts,
Determination of the Composition of Organic Layers
Chemically Bonded on Silicon Dioxide,
Anal.Chem., 54, 193 (1982)
- 59 H.Hemetsberger, H.Klar and H.Ricken,
Donor-Acceptor Complex Chromatography, Preparation
of a Chemically Bonded Acceptor-Ligand and its
Chromatographic Investigation,
Chromatographia, 13, 277 (1980)
- 60 L.Trojer and L.Hansson.
Quantitative Determination of the Degree of Capping
and Structural Investigation of Octadecylsilane Phases
by Means of Pyrolysis-Gas Chromatography,
J.Chromatogr., 262, 183 (1983)
- 61 P.Mussche and M.Verzele,
Pyrolysis of Reversed-Phase High-Performance Liquid
Chromatographic Packing Materials,
J.Anal.Appl.Pyrol., 4, 273 (1983)
- 62 I.Halász and I.Sebastian,
New Stationary Phase for Chromatography,
Angew.Chem., Int.Ed., 8, 453 (1969)
- 63 G.E.Berendsen and L.de Galan,
Preparation and Chromatographic Properties of some
Chemically Bonded Phases for Reversed-Phase Liquid
Chromatography,
J.Liquid Chromatogr., 1, 561 (1978)
- 64 K.Karch, I.Sebastian and I.Halász,
Preparation and Properties of Reversed Phases,
J.Chromatogr., 122, 3 (1976)
- 65 K.Karch,
Unpolare stationäre Phasen in der Hochdruckflüssig-
chromatographie,
Dissertation, Universität Saarbrücken, 1974, S.13
- 66 E.Ehrenthal, J.Schlünsen and G.Manecke,
Bound Protein by Gaschromatographic Determination,
in K.Buchholz (Editor),
Characterization of Immobilized Biocatalysts,
Verlag Chemie, Weinheim, 1979, S.188

- 67 J.G.Cobler, E.P.Samsel and G.H.Beaver,
Determination of Alkyl Cellulose Ethers by Gas Chromatography,
Talanta, 9, 473 (1962)
- 68 G.Bartelmus und R.Ketterer,
Die Analytik von Celluloseäthergruppen,
Z.Anal.Chem., 286, 161 (1977)
- 69 W.Vycudilik und G.Machata,
Zur Analyse von Zellulosemischäthern,
Chromatographia, 6, 384 (1973)
- 70 C.B.Purves,
Chemical Nature of Cellulose and its Derivatives,
in E.Ott, H.M.Spurlin and M.W.Grafflin (Editors),
Cellulose and Cellulose Derivates,
Interscience Publishers, New York, 1954, S.54
- 71 R.T.Morrison, R.N.Boyd (Herausgeber),
Lehrbuch der Organischen Chemie,
Verlag Chemie, Weinheim, 1974, S.1214
- 72 Sephasorb TM HP Ultrafine,
Chromatography in Organic Solvents,
Produkt-Information,
Pharmacia Fine Chemicals AB, Uppsala, 1978
- 73 Sepharose [®] CL,
For Gel Filtration and Affinity Chromatography,
Pharmacia Fine Chemicals AB, Uppsala, 1977
- 74 A.B.Savage, A.E.Young and A.T.Maasberg,
Derivatives of Cellulose/Ethers,
in E.Ott, H.M.Spurlin and M.W.Grafflin (Editors),
Cellulose and Cellulose Derivatives, Vol.II,
Interscience Publishers, Inc., New York, 1954, S.882
- 75 S.Hjertén, J.Rosengren and S.Pählman,
Hydrophobic Interaction Chromatography,
The Synthesis and the Use of some Alkyl and Aryl
Derivatives of Agarose,
J.Chromatogr., 101, 281 (1974)
- 76 R.Axén, J.Porath and S.Ernback,
Chemical Coupling of Peptides and Proteins to Polysaccharides by Means of Cyanogen Halides,
Nature, 214, 1302 (1967)
- 77 R.Axén and S.Ernback,
Chemical Fixation of Enzymes to Cyanogen Halide
Activated Polysaccharide Carriers,
Eur.J.Biochem., 18, 351 (1971)
- 78 J.Kohn and M.Wilchek,
The Determination of Active Species on CNBr and Trichloro-S-Triazine Activated Polysaccharides,
in T.C.J.Gribnau, J.Visser and R.J.F.Nivard (Editors),
Affnity Chromatography and Related Techniques,
Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, 1982, S.235

- 79 F.L.Benton and T.F.Dillon,
The Cleavage of Ethers with Boron Bromide.
J.Some Common Ethers,
J.Am.Chem.Soc.,64,1128 (1942)
- 80 G.Urry,
Boron Halides,
in E.L.Muetterties (Editor),
The Chemistry of Boron and its Compounds,
John Wiley & Sons Inc.,New York,1967,S.334
- 81 E.Staude and F.Patat,
Cleavage of the C-O-C Bond,
in S.Patai (Editor),
The Chemistry of the Ether Linkage,
Interscience Publishers,London,1967,S.21
- 82 T.G.Bonner and E.J.Bourne,
Carbon-Oxygen Bond Scissions,
Meth.Carbohydr.Chem.,2,206 (1963)
- 83 S.Shaltiel and Z.Er-el,
Hydrophobic Chromatography.
Use for Purification of Glycogen Synthetase,
Proc.Nat.Acad.Sci.,USA,70,778 (1973)
- 84 Octyl-Sepharose [®] CL-4B
Phenyl-Sepharose [®] CL-4B,
For Hydrophobic Interaction Chromatography,
Pharmacia Fine Chemicals AB,Uppsala,1977
- 85 V.Stehle,M.Drini et A.Pousse,
Action du tribromure de bore sur des méthoxy alcanes
linéaires,
Bull.Soc.Chim.,6,2171 (1969)
- 86 H.-G.Genieser,D.Gabel and B.Jastorff,
Gas Chromatographic Adsorption Effect Arising from
Boron Trihalides,
J.High Resol.Chromatogr.,Chromatogr.Comm.,6,515 (1983)
- 87 B.A.Bierl,M.Beroza and W.T.Ashton,
Reaction Loops for Reaction Gas Chromatography.
Subtraction of Alcohols,Aldehydes,Ketons,Epoxides,
Acids and Carbon-Skeleton Chromatography of Polar
Compounds,
Microchim.Acta,41,637 (1969)
- 88 J.-L.Ochoa,
Hydrophobic (Interaction) Chromatography,
Biochim.,60,1 (1978)
- 89 H.-G.Genieser,D.Gabel and B.Jastorff,
Quantitative Ether Cleavage of Ligands in Hydrophobic
Agaroses-Precise Determination of the Degree of
Substitution,
J.Chromatogr.,215,235 (1981)
- 90 H.Steinberg (Editor),
Organoboron Chemistry,Vol.1,
John Wiley & Sons Inc.,New York,1964

- 91 H.Meerwein,
Äther,
in E.Müller (Herausgeber),
Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl), Bd.VI/3.,4.Aufl.,
Georg Thieme Verlag,Stuttgart,1965
- 92 T.L.Youngless and M.M.Bursey,
Borate Ester Formation from Alcohols Adsorbed on Boric
Acid Surfaces in Field-Desorption/Field-Ionization
Experiment,
Int.J.Mass Spectrom.Ion Phys.,34,1 (1980)
- 93 J.-M.Egly,A.Pousse et M.Brini,
Action du tribromure de bore sur les phénoxy-1-alcanes
linéaires,
Bull.Soc.Chim.,4,1357 (1972)
- 94 J.F.W.Mc Omie,M.L.Watts and D.E.West,
Demethylation of Aryl Methyl Ethers by Boron Tribromide,
Pergamon Press,24,2289 (1968)
- 95 L.Meunier and M.Gonfard,
The Analysis and some Properties of Benzylcelluloses,
Compt.Rend.,194,1839 (1932)
- 96 W.J.Monacelli and G.F.Hennion,
Cleavage Reactions of Benzyl n-Propyl Ether with
Boron Fluoride,
J.Am.Chem.Soc.,63,1722 (1941)
- 97 J.Ellingboe,E.Nyström and J.Sjövall,
Liquid Gel Chromatography on Lipophilic Hydrophobic
Sephadex Derivatives,
J.Lipid Res.,11,266 (1970)
- 98 T.Prey,
Gelchromatographie von Cellodextrinen an Sephadex LH-20,
J.Chromatogr.,243,158 (1982)
- 99 Sephadex [®],
Gel Filtration in Theory and Practise,
Pharmacia Fine Chemicals AB,Uppsala,1977
- 100 Sephadex [®] LH-20,
Chromatography in Organic Solvents,
Produkt-Information,
Pharmacia Fine Chemicals AB,Uppsala,1977
- 101 Sephadex [®] LH-60,
Chromatography in Organic Solvents,
Produkt-Information,
Pharmacia Fine Chemicals AB,Uppsala,1976
- 102 DEAE-Sephrose [®] CL-6B,
CM-Sephrose [®] CL-6B,
For Ion Exchange Chromatography,
Pharmacia Fine Chemicals AB,Uppsala,1976
- 103 Dextran Fraction,Dextran Sulphate,DEAE-Dextran,
Defined Polymers for Biological Research,
Pharmacia Fine Chemicals AB,Uppsala,1977

- 104 D.M.Saignet, R.J.Berni and R.R.Benerito,
Electron Spectroscopy (ESCA) for Analysis of Cellulose
Anion Exchangers,
Anal.Chem., 46, 941 (1974)
- 105 P.Sykes (Herausgeber),
Reaktionsmechanismen der Organischen Chemie,
Verlag Chemie, Weinheim, 1974, S.95
- 106 P.A.S.Smith (Editor),
The Chemistry of Open-Chain Organic Nitrogen Com-
pounds, Vol.1,
W.A.Benjamin, Inc., New York, 1965, S.25
- 107 J.Goerdeler,
Methoden zur Herstellung und Umwandlung von quartä-
ren Ammoniumverbindungen,
in C.Müller (Herausgeber),
Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl), Bd.XI/2,
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1958, S.631
- 108 R.H.Mc Kee,
The Oxygen Ethers of the Dialkylureas,
Am.Chem.J., 42, 1 (1909)
- 109 S.E.Forman, C.A.Erickson and H.Adelman,
Chemistry of Pseudoureas,
J.Org.Chem., 26, 2653 (1963)
- 110 E.Vowinkel,
Darstellung von Carbonsäureestern mittels O-Alkyl-
N, N'-dicyclohexyl-isoharnstoff,
Chem.Ber., 100, 16 (1967)
- 111 F.B.Dains,
On the Isourea Ethers and other Derivatives of Ureas,
J.Am.Chem.Soc., 21, 136 (1899)
- 112 G.I.Tesser, H.-U.Fisch and R.Schwyzer,
Limitations of Affinity Chromatography: Solvolytic
Detachment of Ligands from Polymeric Supports,
Helv.Chim.Acta, 57, 1718 (1974)
- 113 A.Ogamo, K.Matsuzaki, H.Uchitjama and K.Nagasawa,
Hydrophobic Chromatography of Mucopolysaccharides,
J.Chromatogr., 213, 439 (1981)
- 114 H.Halpaap,
Charakterisierung von Kieselgelen nach Porensystem
und Aktivität,
J.Chromatogr., 78, 63 (1973)
- 115 K.K.Unger (Editor),
Porous Silica,
Elsevier Scientific Publ.Comp., Amsterdam, 1979
- 116 A.Petzold und W.Hinz (Herausgeber),
Silikatchemie,
F.Enke Verlag, Stuttgart, 1979, S.187
- 117 H.Halpaap,
Erzielung von reproduzierbaren Trennungen durch Ver-
wendung von standardisierten Sorbentien in definierten
Systemen,
J.Chromatogr., 78, 77 (1973)

- 118 T.J.N.Webber and E.H.Mc Kerrel,
Optimization of Liquid Chromatographic Performance
on Columns Packed with Microparticulate Silicas,
J.Chromatogr.,243,122 (1976)
- 119 G.E.Maciel and D.W.Sindorf,
Silicon-29 Nuclear Magnetic Resonance Study of the
Surface of Silica Gel by Cross Polarization and
Magic-Angle Spinning,
J.Am.Chem.Soc.,102,7606 (1980)
- 120 R.J.H.Voorhoeve (Editor),
Organohalosilanes:Precursors to Silicones,
Elsevier,Amsterdam,1967
- 121 M.Verzele and P.Mussche,
Monomeric and Polymeric Derivatization in Reversed-
Phase High-Performance Liquid Chromatography Materials,
J.Chromatogr.,254,117 (1983)
- 122 H.Hemetsberger,M.Kellermann and H.Ricken,
Behaviour of Chemically Bonded Alkylmethyldichlor-
silanes to Silica Gel in Reversed-Phase High-Per-
formance Liquid Chromatography,
Chromatographia,10,726 (1977)
- 123 M.Okamoto and F.Yamada,
Preparation and Evaluation of Benzyltrimethylchlorosilane-
Treated Silica Column for High-Performance Liquid
Chromatography,
J.Chromatogr.,247,167 (1982)
- 124 M.Novotny,
Chromatography on Silylated Surfaces,
in E.Grushka (Editor),
Bonded Stationary Phases in Chromatography,
Ann Arbor Sci.Publ.,Ann Arbor,1974,S.199
- 125 W.A.Aue and P.P.Wickramanyake,
"Bonded Phases" from Cyclic Organosilicons for Gas
and Liquid Chromatography,
J.Chromatogr.,200,3 (1980)
- 126 I.Molnar,
Herstellung und Behandlung von HPLC-Säulen unter
Routinebedingungen,
Chromatographia,12,371 (1979)
- 127 V.Chvalovský,
Cleavage Reactions of the Carbon-Silicon Bond,
in E.I.Becker and M.Tsutsui (Editors),
Organometallic Reactions,Vol.3,
Wiley-Interscience,New York,1972,S.193
- 128 C.Eaborn and R.W.Bott,
Synthesis and Reactions of the Silicon-Carbon Bond,
in A.G.Mac Diarmid (Editor),
The Bond to Carbon,
M.Dekker,Inc.,New York,1968,S.359

- 129 J.Franc und J.Dvořáček,
Strukturanalyse Siliziumorganischer Verbindungen mit
Hilfe der Gaschromatographie,
J.Chromatogr.,14, 340 (1964)
- 130 J.Franc und K.Plaček,
The Systematic Analysis of Organosilicon Compounds
by Chromatographic Methods.II,
J.Chromatogr.,67, 37 (1972)
- 131 W.L.Jolly, ,
The Deprotonation of Weak Acids with Potassium
Hydroxide:Applications to the Synthesis of Organo-
metallic Compound,
in W.L.Jolly (Editor),
Inorganic Syntheses,Vol.XI,
Mc Graw-Hill Book Comp.,New York,1968,S.113
- 132 K.A.Adranov and N.N.Sokolov,
Thermal Oxidation Destruction of Polysiloxanes,
Khim.Prom.,Vol.6,329 (1955),
Chem.Abstr.,50,7499 (1956)
- 133 A.L.Smith (Editor),
Analysis of Silicons,
J.Wiley,New York,1974
- 134 W.S.Tatlock and E.G.Rochow,
The Action of Strong Base on Hexamethyldisiloxane,
J.Am.Chem.Soc.,72, 528 (1950)
- 135 H.-G.Genieser,D.Gabel and B.Jastorff,
Determination of Liqand Contents of Octadecyl-
Modified Silicas,
J.Chromatogr.,244, 368 (1982)
- 136 K.Unger,N.Becker and P.Roumeliotis,
Recent Development in the Evaluation of Chemically
Bonded Silica Packings for Liquid Chromatography,
J.Chromatogr.,125, 115 (1976)
- 137 K.Unger,
Chemical Surface Modification of Porous Silica
Adsorbents in Chromatography.
Kontakte (Merck),2, 32 (1979)
- 138 L.Boksanyi,O.Liardon and E.Kovats,
Chemically Modified Silicon Dioxide Surfaces,
Adv.Colloid Interface Sci.,6, 95 (1975)
- 139 W.Werner and I.Halász,
Pore Structure of Chemically Modified Silica Gels
Determined by Exclusion Chromatography,
J.Chromatogr.Sci.,18, 277 (1980)
- 140 R.K.Gilpin and M.F.Burke,
Role of Tri-and Dimethylsilanes in Tailoring Chro-
matographic Adsorbents,
Anal.Chem.,45, 1383 (1973)
- 141 E.Stenhagen,S.Abrahamsson,F.W.Mc Lafferty (Editors),
Registry of Mass Spectral Data.
Wiley Interscience,New York,1974

- 142 Serva Verkaufskatalog,
Heidelberg, 1980, S. 217
- 143 V. Bažant, V. Chvalovský and J. Rathouský (Editors),
Organosilicon Compounds, Vol. 1,
Academic Press, New York, 1965, S. 51
- 144 F. Wiberg and V. Krüerke,
Cleavage of Silicon-Oxygen Bonds by Boron Halides,
Reaction of Boron Halides with Alkyl Silicates,
Z. Naturforsch., 8, 609 (1953)
- 145 N. Tanaka, Y. Tokuda, K. Iwauchi and M. Araki,
Effect of Stationary Phase Structure on Retention
and Selectivity in Reversed-Phase Liquid Chromatography,
J. Chromatogr., 239, 761 (1982)
- 146 V. Bažant, V. Chvalovský and J. Rathouský (Editors),
Organosilicon Compounds, Vol. 1,
Academic Press, New York, 1965, S. 233
- 147 G. B. Cox, C. R. Loscombe, M. J. Slucutt, K. Sugden and J. A. Upfield,
The Preparation, Properties and some Applications of
Bonded Ion-Exchange Packings Based on Microparticulate
Silica Gel for High-Performance Liquid Chromatography,
J. Chromatogr., 117, 269 (1976)
- 148 W. Parr and M. Novotny,
Use of Novel Silanes for the Solid-Phase Peptide
Synthesis and the Preparation of Polar Chemically
Bonded Phases for Liquid Chromatography,
in E. Grushka (Editor),
Bonded Stationary Phases in Chromatography,
Ann Arbor Sci. Publ., Ann Arbor, 1974
- 149 B. B. Wheals,
Simple Preparation of a Bonded Cation-Exchange
Packing Material and its Application to the Separation
of Phenothiazines by High-Performance Liquid Chromatography,
J. Chromatogr., 177, 263 (1979)
- 150 N. Weigand, I. Sebastian und I. Halász,
Neuartige Kationenaustauscher auf Kieselgelbasis,
J. Chromatogr., 102, 325 (1974)
- 151 T. Nakagawa, K. Miyajima and T. Uno,
Alkali Fusion-Gas Chromatography of Alkyl Sulfonates,
J. Gas Chromatogr., 6, 292 (1968)
- 152 M. C. Boswell and J. V. Dickson,
The Fusion of Sodium Hydroxide with Several Phenols
and Sulfonic Acids,
J. Am. Chem. Soc., 40, 1786 (1918)
- 153 I. Ötvös, B. Bartha, Z. Balthazár and G. Pályi,
Petrochemical Analytical Problems/
IV. Gas-Liquid Chromatographic-Mass Spectrometric
Investigation of the Desulphonation of Dodecylbenzene-
sulphonic Acids,
J. Chromatogr., 94, 330 (1974)

- 154 J.Franc, J.Šenkýřová, F.Mikeš and K.Plaček,
Identification of Alkyl Groups in Aromatic Substances,
J.Chromatogr., 43, 1 (1969)
- 155 H.König (Herausgeber),
Neuere Methoden zur Analyse von Tensiden,
Springer Verlag, Berlin, 1971, S.27
- 156 S.P.Frankoski,
Analysis of Functional Groups by Alkali-Fusion Reaction
Gas Chromatography,
Ph.D.-Thesis, University of Massachusetts, Amherst, 1972
- 157 P.Tundo, P.Venturello and E.Angeletti,
Anion-Exchange Properties of Ammonium Salts Immobilized
on Silica Gel,
J.Am.Chem.Soc., 104, 6547 (1982)
- 158 P.A.Asmus, C.-E.Low and M.Novotny,
Preparation and Chromatographic Evaluation of
Chemically Bonded Ion-Exchange Stationary Phases,
I.Strong Anion Exchangers,
J.Chromatogr., 119, 25 (1976)
- 159 P.A.Asmus, C.-E.Low and M.Novotny,
Preparation and Chromatographic Evaluation of
Chemically Bonded Ion-Exchange Stationary Phases,
J.Chromatogr., 123, 109 (1976)
- 160 K.Unger und D.Nyamah,
Druckstabile Ionenaustauscher auf der Basis von po-
rösem Siliziumdioxid in der Säulen-Flüssig-Chromato-
graphie,
Chromatographia, 7, 63 (1974)
- 161 H.R.le Sueur and C.C.Wood,
Mechanism of the Action of Fused Alkalies.
I.Action of Fused Potassium Hydroxide on Dihydroxy-
stearic Acid and Dihydroxybehenic Acid,
J.Chem.Soc., 119, 1697 (1921)
- 162 E.H.White and D.J.Woodcock,
Cleavage of the Carbon-Nitrogen Bond,
in S.Patai (Editor),
The Chemistry of the Amino Group,
Interscience Publishers, London, 1968, S.407
- 163 H.Becker et al.(Herausgeber),
Organikum, 15.Auflage,
VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, 1976, S.411
- 164 M.Okamoto,
Preparation and Evaluation of 3-Amino-Propyltri-
ethoxsilane-Treated Silica for High-Performance
Liquid Chromatography of Low-Molecular-Weight
Aldehydes as the Lutidine Derivatives,
J.Chromatogr., 202, 55 (1980)
- 165 J.K.Haken and J.A.Obita,
Analysis of Resinous or Fatty Polyamides Using Gas
and Gel Permeation Chromatography,
J.Chromatogr., 213, 55 (1981)

- 166 R.S.Gohlke and F.W.Mc Lafferty,
Mass Spectrometric Analysis/
Aliphatic Amines,
Anal.Chem., 34, 1281 (1962)
- 167 A.Wohl,
Überführung von Nitrobenzol in o-Nitrophenol durch Kalihydrat
Chem.Ber., 32, 3486 (1899)
- 168 W.Seidenfaden und D.Pawellek,
Aromatische Nitroverbindungen.
in E.Müller (Herausgeber),
Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl),
Bd.X/1, 4.Auflage,
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1971, S.884
- 169 P.Buck,
Reaktionen aromatischer Nitroverbindungen mit Basen,
Angew.Chemie, 4, 136 (1969)
- 170 E.A.V.Ebsworth,
Physical Basis of the Chemistry of the Group IV Elements,
in A.G.Mac Diarmid (Editor),
The Bond to Carbon,
M.Dekker, Inc., New York, 1968, S.28
- 171 G.Jones,
Chromatographic Separation of 24 (R), 25 Dihydroxy-
vitamin D₃ and 25 Hydroxyvitamin D₃-26, 23-Lactone
Using a Cyano-Bonded Phase Packing,
J.Chromatogr., 276, 69 (1983)
- 172 F.E.Regnier and R.Noel,
Glycerolpropylsilane Bonded Phases in the Steric
Exclusion Chromatography of Biological Macromolecules,
J.Chromatogr.Sci., 14, 316 (1976)
- 173 H.S.Fry and E.Otto,
The Liberation of Hydrogen from Carbon Compounds
III.The Interaction of Monatomic Alcohols and
Esters with Fused Caustic Alkalies,
J.Am.Chem.Soc., 50, 1138 (1928)
- 174 H.-G.Genieser, D.Gabel and B.Jastorff,
Characterization of Silica Bonded Stationary Phases,
J.Chromatogr., 269, 127 (1983)
- 175 R.E.Borron and J.S.Fritz,
Effect of Functional Group Structure on the Selectivity
of Low-Capacity Anion Exchangers for Monovalent Anions,
J.Chromatogr., 284, 13 (1984)
- 176 P.J.Twitchett, A.E.P.Gorvin and A.C.Moffat,
High-Pressure Liquid Chromatography of Drugs
II.An Evaluation of a Microparticulate Cation-
Exchange Column,
J.Chromatogr., 120, 359 (1976)

Nachtrag

Teile dieser Arbeit wurden bereits publiziert:

Kapitel 2.2.2 und 2.2.3:

H.-G.Genieser, D.Gabel and B.Jastorff,
Quantitative Ether Cleavage of Ligands in Hydropho-
bic Agaroses - Precise Determination of the Degree
of Substitution,
J.Chromatogr., 215, 235 (1981)

Kapitel 2.2.2.2

H.-G.Genieser, D.Gabel and B.Jastorff,
Gas Chromatographic Adsorption Effect Arising from
Boron Trihalides,
J.High Resol.Chromatogr., Chromatogr.Comm., 6, 515
(1983)

Kapitel 3.2.3

H.-G.Genieser, D.Gabel and B.Jastorff,
Determination of Ligand Contents of Octadecyl-
Modified Silicas,
J.Chromatogr., 244, 368 (1982)

Kapitel 3.2.3 - 3.2.13

H.-G.Genieser, D.Gabel and B.Jastorff,
Characterization of Silica Bonded Stationary Phases,
J.Chromatogr., 269, 127 (1983)

Danksagung

Herrn Prof.Dr.D.Gabel und Herrn Prof.Dr.B.Jastorff
danke ich für die Anregung und Förderung dieser Arbeit.
Ihre Unterstützung und das stete Interesse an der bear-
beiteten Problematik waren sehr hilfreich.

LEBENS LAUF

- 23.4.53 Geboren in Berlin als Sohn des Geologen Dr.Kurt Genieser und seiner Ehefrau Ilse,geb.Guischard.
- April 1960 Einschulung in die Grundschule "Altenbekener Damm",Hannover.
- März 1962 Besuch der Freien Waldorfschule,Hannover
- Sept.1965 Besuch des Kaiser Wilhelm Gymnasiums,Hannover.
- Aug. 1967 Besuch des Gymnasiums in Syke,dort Ablegung
bis
Mai 1973 der Reifeprüfung.
- Okt. 1973 Aufnahme des Chemiestudiums an der TU Claus-
thal-Zellerfeld.
- Nov. 1974 Hochschulwechsel zur Universität Bremen.
- Mai 1975 Eheschließung mit der Lehrerin Margret Genieser,
geb.Kattelman.
- Okt.1979 Ablegung des Ersten Staatsexamens für das Lehr-
amt an höheren Schulen,Fachkombination Chemie/
Geographie.
- April 1980 Wissenschaftlicher Mitarbeiter und Doktorand
an der Universität Bremen.

